

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

Studijní obor: Farmacie



**Transkarbam 12 a transdermální průnik kofeinu
z oleokrémů. 2.**

**Transkarbam 12 and caffeine transdermal
permeation from oleocreams. 2.**

Diplomová práce

Pavla Dvořáková

Vedoucí práce: Mgr. Pavel Berka

Hradec Králové, 2009

Prohlašuji, že tato diplomová práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně za odborného dohledu vedoucího diplomové práce. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Pavla Dvořáková

Touto cestou bych ráda poděkovala všem, kteří mi pomáhali při realizaci této práce. Především vedoucímu diplomové práce Mgr. Pavlovi Berkovi za odborné vedení, zájem a čas, který věnoval mé práci. Dále katedře farmaceutické technologie za poskytnuté zázemí. Mé poděkování rovněž patří kamarádce a kolegyni Janě Štikové a rodině za maximální podporu.

ABSTRAKT

V teoretické části byla přehledně zpracována problematika kůže jako bariéry a problematika akceleračních transdermálních permeací, zejména Transkarbamu 12 (T12).

V další části diplomové práce byl hodnocen akcelerační účinek různých koncentrací T12 na *in vitro* permeaci kofeinu přes prasečí kůži plné tloušťky z oleokrémů s 30 % vodné fáze.

U krémů s 0%; 0,3%; 0,5%; 0,7% a 1% T12 byly zjištěny hodnoty průměrných fluxů kofeinu **J_r** $6,29 \pm 0,90 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$; $9,13 \pm 0,95 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$; $8,71 \pm 1,91 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$; $10,20 \pm 3,25 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ a $7,06 \pm 0,81 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$.

Klíčová slova: Transkarbam 12, akceleranty transdermální permeace, kofein, oleokrém

In theoretical part of this work, the skin barrier function and transdermal permeation enhancers (with focus on Transkarbam 12, T12) were reviewed.

In following experimental part, the acceleration effect of various concentrations of Transkarbam 12 (T12) on *in vitro* caffeine permeation through full-thickness pig ear skin was evaluated. Caffeine was administered in oleocrems containing 30 % aqueous phase.

The values of mean flux of caffeine **J_r** from creams containing 0%; 0,3%; 0,5%; 0,7% and 1% T12 were $6,29 \pm 0,90 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$; $9,13 \pm 0,95 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$; $8,71 \pm 1,91 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$; $10,20 \pm 3,25 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ and $7,06 \pm 0,81 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ respectively.

Keywords: Transkarbam 12, transdermal permeation enhancers, caffeine, oleocream

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| 1 ÚVOD..... | 7 |
| 2 CÍL PRÁCE..... | 8 |
| 3 TEORETICKÁ ČÁST..... | 9 |
| 3.1 Kožní bariéra..... | 9 |
| 3.2 Transdermální přenos | 11 |
| 3.2.1 Podmínky pro transdermální přenos..... | 11 |
| 3.2.2 Transdermální podání léčiv | 11 |
| 3.3 Akceleranty transdermální permeace..... | 12 |
| 3.3.1 Mechanismus působení akceleračních látek | 12 |
| 3.3.2 Požadavky na akceleranty transdermální permeace..... | 13 |
| 3.3.3 Vztah struktury a akceleračního účinku | 13 |
| 3.3.4 Rozdělení akceleračních látek transdermální permeace podle chemické struktury | 14 |
| 3.4 Transkarbam 12..... | 17 |
| 3.4.1 Základní charakteristika..... | 17 |
| 3.4.2 Předpokládaný mechanismus účinku | 18 |
| 3.4.3 Vliv změn alkoholové části esterů v koncovém řetězci Transkarbamu.. | 19 |
| 3.4.4 Vliv změn v kyselinové části esteru-spojovacím řetězci na aktivitu..... | 20 |
| 3.4.5 Budoucnost akceleračních látek | 20 |
| 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST..... | 21 |
| 4.1 Suroviny a materiál..... | 21 |

| | |
|---|-----------|
| 4.2 Přístroje k permeačnímu pokusu | 22 |
| 4.3 Biologický materiál | 23 |
| 4.4 Oleokrém..... | 23 |
| 4.4.1 Složení oleokrému | 23 |
| 4.4.2 Postup přípravy oleokrému | 24 |
| 4.4.3 Složení a příprava TRIS pufru | 25 |
| 4.5 Uspořádání permeačních pokusů | 25 |
| 4.6 Podmínky pro stanovení kofeinu na HPLC | 26 |
| 4.7 Příprava kalibračních roztoků | 26 |
| 4.8 Výsledky měření..... | 27 |
| 5 DOKUMENTACE..... | 28 |
| 6 VÝSLEDKY A DISKUZE..... | 84 |
| 7 ZÁVĚRY..... | 93 |
| 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ..... | 94 |
| 9 ZDROJE..... | 95 |

1 ÚVOD

Pro většinu léčiv byla transdermální aplikace, vzhledem k bariérovým vlastnostem nepoškozené kůže, značně obtížná. Již několik desítek let sice byly známé lokálně dráždivé a místně prokrvující látky (keratoplastika a derivancia), ale vzhledem k tomu, že nebylo možné odhadnout množství a čas průniku léčiva přes kůži, bylo jejich použití značně limitováno. Zlom nastal koncem 70. let, kdy se tento problém začal jevit z velké části jako řešitelný. V této době bylo získáno mnoho poznatků z oblasti nových a tedy dosud neprostudovaných urychlovačů transdermální permeace. Ve srovnání se zmíněnými keratoplastiky a derivancii představovaly akceleranty transdermální permeace kvalitativní posun právě ve smyslu odhadnutelného množství a času průniku léčiva přes kůži. Díky těmto vlastnostem se akceleranty začaly velmi bouřlivě rozvíjet a stále se rozvíjejí. Staly se nezbytnou součástí topických a transdermálních léčivých přípravků.

Na Farmaceutické fakultě v Hradci Králové se problematika akceleračtů transdermální permeace řeší již od roku 1989. Cílem bylo získání co největšího množství informací o vztazích mezi strukturou a účinkem a také o předpokládaném mechanismu působení urychlovačů transdermálního přenosu. Do dnešní doby bylo připraveno několik stovek sloučenin různých struktur s transdermálně akcelerační aktivitou. Nejperspektivnější sloučenina byla připravena již začátkem 90. let a byla nazvaná Transkarbam 12 (T12). Transkarbam 12 dokázal urychlit průnik léčiv přes kůži až 40krát a byl a stále je výrazně účinnější než většina urychlovačů.

V předkládané diplomové práci je primární pozornost věnována právě T12 a hodnocení jeho akcelerační aktivity. Navazuje se tím na soubor poznatků, které přinesl výzkumný tým katedry anorganické a organické chemie a katedry farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové.

Pro experimentální hodnocení akceleračního účinku T12 musel být zvolen vhodný permeant. Na základě výsledků z předchozích let se ukázal jako nejvhodnější kofein. Tato látka střední polaritě dobře prochází lidskou i prasečí kůží, nemá tendenci se v ní kumulovat, je dostatečně stabilní a dobře se stanovuje (pomocí HPLC). Hodnocení akcelerace průniku kofeinu účinkem T12 přes prasečí kůži umožňuje stanovení jeho aktivní formy pro stabilitní testy krémů, které mají aplikačně prakticky využitelné složení.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bude získat dostatečné množství údajů pro biologické „in vitro“ permeační stanovení T12 v hydrofobním krému (oleokrému) s obsahem 30 % vody.

Pro „in vitro“ pokusy bude jako modelový marker permeace zvolen kofein a bude použita kůže z vnější strany boltce prasečího ucha.

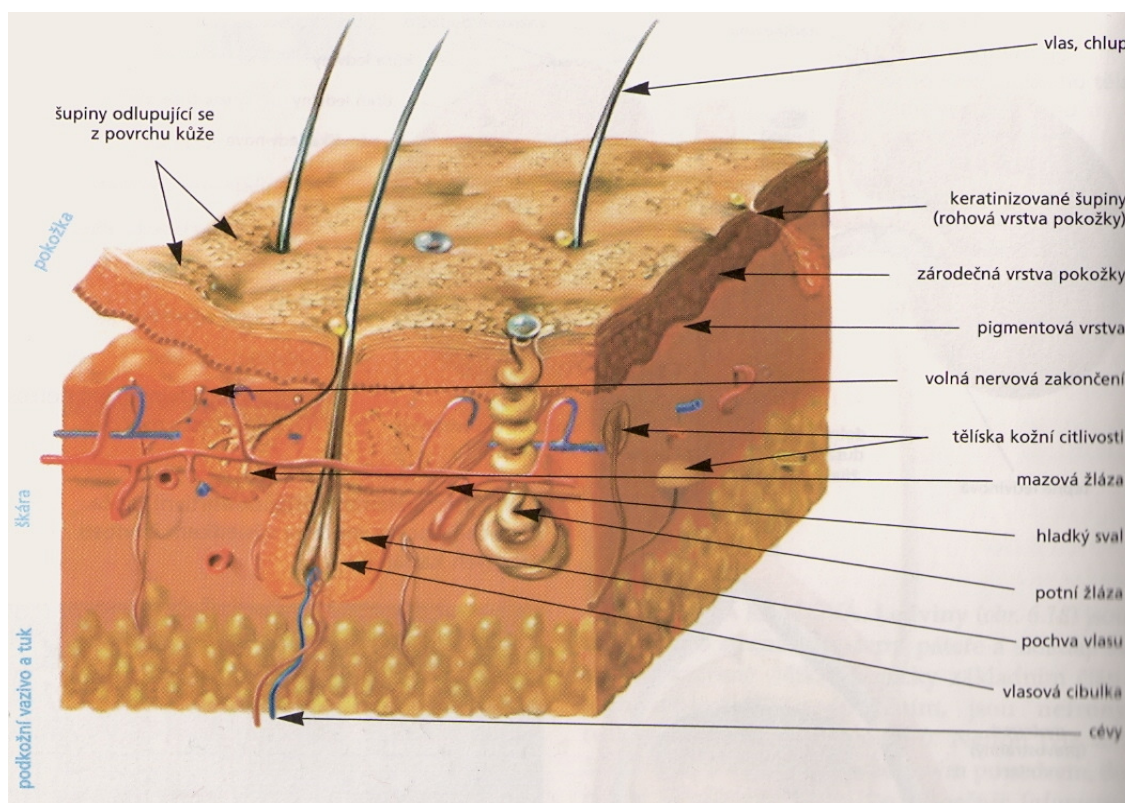
Náplň jednotlivých úkolů:

1. Ověření koncentrační závislosti permeačního účinku T12 vůči kofeinu.
2. Vyhodnocení stability reprezentativního krému s obsahem 30 % vody, 1 % kofeinu a různých koncentračních úrovní T12 (0%, 0,3%, 0,5%, 0,7%, 1%)
3. Porovnání s výsledky získanými a vypracovanými Janou Štikovou ve stejném roce, v diplomové práci zabývající se krémem s 60 % vodné fáze a stejnými koncentracemi T12.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Kožní bariéra

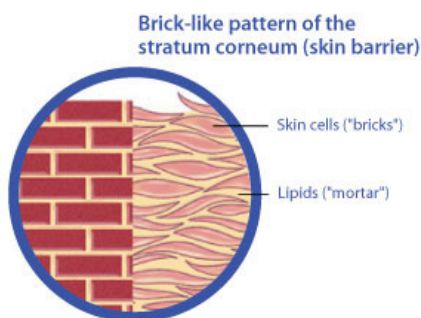
Kůže jako významná tělesná struktura plní řadu fyziologických funkcí, především tvoří bariérové rozhraní mezi vnějším okolím a vnitřním prostředím organismu, představuje účinnou bariéru pro průnik xenobiotik dovnitř a zároveň chrání organismus před nežádoucím únikem endogenních látek. Kožní povrch je hlavním místem pro topickou a transdermální aplikaci léčiv nejen v dermatologii a kosmetice, ale i v řadě dalších lékařských oborů, jako je revmatologie a endokrinologie. Mezi výhody této aplikační cesty bezesporu patří trvalý a rovnoměrný přísun léčiva, vyloučení first-pass efektu, relativně nízký výskyt nežádoucích účinků a lepší pacientova compliance než u perorálních či injekčních přípravků.^{1,2}



Obr. 1: Schéma stavby kůže člověka³

Její plocha měří 1,6-1,8 m². Skládá se z pokožky, škáry a podkožního vaziva.³ Kůže je tvořena dvěma základními vrstvami: vnější (epidermis) a vnitřní (dermis).

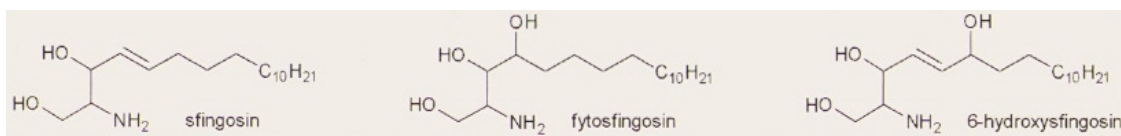
Dermis je tvořena fibroblasty. Obsahuje velké množství krevních kapilár, nervů a nervových zakončení, vlasových folikulů, potních a mazových žláz. Vyživuje vnější vrstvu. Epidermis obsahuje keratynocyty, melanocyty, Langerhansovy a Merkelovy buňky. Je rozdělována do čtyř vrstev: stratum basale, spinosum, granulosum a corneum.⁴ Každá vrstva představuje různé stadium diferenciacie keratinocytů, které vznikají z kmenových buněk bazální membrány a postupně migrují k povrchu. Vlivem nedostatku kyslíku a živin buňky odumírají, stávají se zploštělými, zanikají buněčné



Obr. 2: Kožní bariéra („brick and mortar“)⁷

organely včetně buněčného jádra, dochází k hromadění keratinu a lipidů. Tento proces se nazývá keratinizace. Stratum corneum (SC) tvoří nejsvrchnější neživou vrstvu epidermis.⁵ Vzniká keratinizací. Je tvořeno 18-21 vrstvami korneocytů (poslední stadium diferenciacie keratinocytů) obklopenými lipidovou maticí. Toto typické uspořádání se často označuje jako „cihly a malta“⁶ („brick and mortar“, obr.2)

Lipidová matrix SC je složena z ceramidů (50%) – sloučenin sfingosinu (obr.3) s mastnými kyselinami s počtem uhlíků asi 22-34, cholesterolu (25%), volných mastných kyselin (10%) a dalších minoritně zastoupených lipidních komponent (estery cholesterolu, cholesterolsulfát, glukosylceramidy).



Obr. 3: Sfingosin a jeho strukturní obměny¹⁴

SC neobsahuje fosfolipidy a na rozdíl od jiných biologických membrán se vyznačuje nízkou permeabilitou pro vodu (asi tisíckrát nižší). Bariérová funkce SC je dána unikátním uspořádáním lipidové matrix, která tvoří velmi dobře a pevně organizované lamely. Díky vysokému obsahu ceramidů s dlouhými nerozvětvenými nasycenými alifatickými řetězci dochází ke tvorbě nepropustné struktury.⁵ Metoda ke

zkoumání bariérové funkce kůže za fyziologických i patologických stavů se označuje jako TEWL (měření transepidermální ztráty vody). Slouží k objektivizaci a zpřesnění klinické diagnózy, k vyhodnocování iritačních testů, ke sledování účinků léků a kosmetik. V současnosti se používají tři druhy měřících přístupů: uzavřené, ventilované a otevřené komůrky.⁸

3.2 Transdermální přenos

3.2.1 Podmínky pro transdermální přenos

Látka, kterou chceme podat transdermálně, musí projít vrstvami kůže do kapilární a lymfatické sítě uložené v podkoží. Zásadní je průnik vrstvami rohovatějících buněk, které jsou proloženy vrstvou vodní a lipofilní. Nejpravděpodobnější je meandrovitý průnik látky mezi rohovatějícími buňkami přes lipofilní vrstvu. Procházet mohou jen liposolubilní látky s malou molekulovou hmotností.⁹ Např. morfin je hydrofilní, má větší molární hmotnost než opioidy buprenorfin a fentanyl a proto proniká kůží tisíckrát pomaleji. Pro transdermální přenos je tedy morfin nevhodný. Naopak transdermální terapeutický systém (TTS) umožňuje nízkofrekvenční dávkování pro buprenorfin (po 12 až 24 hodinách) a pro fentanyl (1x za 72 hodin). Ustálená hladina opioidů v krvi eliminuje jeho vedlejší účinky i četnost intervalů insuficientní analgezie při hladině nižší než je MEAK (minimální efektivní analgetická koncentrace).¹⁰

3.2.2 Transdermální podání léčiv

Při transdermálním podání se využívá velmi dobré penetrace některých léčiv intaktní kůží a jejich absorpce do systémového oběhu. Platí však jistá omezení ze strany nároků na charakter léčiva. V první řadě je to rozpustnost léčiva v nosiči, schopnost penetrace (vstupu léčiva do kůže), permeace (průnik léčiva kůží) a následné resorpce do krevních nebo lymfatických cév. Pro penetraci a permeaci léčiv do kůže jsou klíčové fyzikálně-chemické vlastnosti léčiva, tloušťka rohové vrstvy a stupeň její hydratace.

Velkou variabilitu v absorpci způsobují rozdíly ve stavbě a tloušťce kůže na různých částech těla. Aplikovaná dávka léčiva nesmí být vyšší než 25 mg/den.¹¹

Ve fázi klinického hodnocení pro transdermální podání je již celá řada nových léčiv – jako například fysostigmin, D₂ agonista N-0923, selegilin pro terapii parkinsonismu, cytostatikum 5-fluorouracil nebo ethanol pro terapii odvykání závislosti. Mezi transdermálně podávaná léčiva můžeme v současnosti zařadit glyceroltrinitrát, skopolamin, fentanyl, flurbiprofen, diklofenak, klonidin, propranolol, nikotin a estrogeny (v kombinaci s gestageny).¹¹ Transdermální aplikace ethinylestradiolu v kombinaci s norelgestrominem (přípravek EVRA) představuje novou antikoncepční metodu uvedenou do praxe v roce 2003. Rezervoár náplasti obsahuje 0,6 mg ethinylestradiolu a 6 mg norelgestrominu. Z tohoto množství se uvolňuje za 24 hodin 20 µg prvního a 150 µg druhého po dobu sedmi dnů.¹²

3.3 Akceleranty transdermální permeace

3.3.1 Mechanismus působení akceleraantů

Akceleranty transdermální penetrace jsou důležitou skupinou farmaceutických pomocných látek. Slouží k usnadnění hluboké permeace léčiv přes kůži do přilehlých tkání nebo do krevního či lymfatického oběhu.

Jejich úkolem je reverzibilně snížit bariérové vlastnosti kůže a umožnit průnik léčiva přes kůži v předem odhadnutelném množství a čase. Působení urychlovačů je tedy pravděpodobně založeno na nescifických interakcích se strukturami kůže. Mechanismus účinku spočívá v jedné ze tří následujících možností, popřípadě i v jejich kombinaci:¹³

- 1) účinkem akceleraantů dochází k rozrušení organizované struktury lipidů v intercelulárních prostorech kůže, zejména její povrchové rohové vrstvy (stratum corneum)

- 2) akceleraant interaguje s intracelulárními proteiny kůže

- 3) akceleraant optimalizuje hodnotu rozdělovacího koeficientu léčiva mezi léčivým přípravkem a kožními membránami

3.3.2 Požadavky na akceleranty transdermální permeace

Obzvlášť přísné nároky jsou kladeny na vlastnosti akceleračních látek, protože jako součásti lékových forem se dostávají do přímého styku s lidským organismem. Neměly by ho tedy zásadním způsobem ovlivnit nebo dokonce poškodit. Ideální akcelerační látka by z těchto důvodů měla splňovat co největší množství z následujících požadavků: ¹⁴

- měly by být netoxické, nedráždivé a nealergizující
- nástup účinku by měl být rychlý, délka a průběh působení by měly být předvídatelné
- neměly by mít vlastní farmakologický účinek
- měly by účinkovat jen v jednom směru (tzn. usnadňovat vstup léčiva do těla, ale nedovolovat ztrátu endogenních látek)
- po jejich odstranění z kůže by měla nastat co nejrychlejší obnova bariérových funkcí
- měly by být kompatibilní se všemi složkami přípravku
- měly by být bez barvy, chuti, zápachu

3.3.3 Vztah struktury a akceleračního účinku

Definovat optimální strukturu akceleračních látek transdermální permeace lze velmi obtížně. Na základě údajů a poznatků, které byly až doposud získány, je možno říci, že molekula akcelerační látky, má-li interagovat se strukturami SC, především s ceramidy, musí vykazovat některé podobné strukturální a fyzikálně-chemické charakteristiky právě s těmito látkami. Nezbytností je přítomnost polárních a současně vysoce lipofilních fragmentů v molekule, reprezentovaných nejčastěji nasyceným, nerozvětveným alifatickým řetězcem okolo 12 atomů uhlíku. Rozvětvení řetězce většinou akcelerační aktivitu podstatně snižuje.

Ačkoliv ceramidy jsou chirálními látkami, nemá prostorové uspořádání akcelerační látky na jeho aktivitu statisticky významný vliv. ¹⁵

3.3.4 Rozdělení akceleračních transdermálních permeací podle chemické struktury

Akcelerační transdermální permeace jsou chemicky velmi různorodou skupinou látek. Přesto lze v jejich strukturách objevit určité společné prvky. Velmi často obsahují fragment základních přirozených hydratačních faktorů, fyziologicky přítomných v kůži. Nejjednodušší částí, která byla vysledována v akceleračně účinných látkách je fragment $X-CO-N=$, kde X je $-CH_2-$, $-NH_2$, $-NH-$, přičemž by v molekule měl být vždy přítomen dlouhý alkylový či alkenový (nejčastěji C8 až C20) přímý nebo rozvětvený řetězec, ve kterém mohou existovat další izosterní obměny.¹⁶

Některé příklady transdermálních akceleračních:

Alkylsulfoxidy - nejznámější z této skupiny je dimethylsulfoxid (DMSO), který byl donedávna jedním z nejpoužívanějších akceleračních „in vitro“. Studiemi bylo zjištěno, že reverzibilně denaturuje keratin a vymývá intersticiální lipidy. Tím otevírá proteinovou matriku a tak usnadňuje permeaci. Nevýhodou je, že se musí používat ve vysokých koncentracích (nad 60%).¹⁷ V poslední době se od jeho užívání upouští pro jeho farmakologické účinky. Stále však patří mezi 20 nejpoužívanějších rozpouštědel. Jako rozpouštědlo se například využívá při krystalizaci aktivních substancí ve farmaceutickém průmyslu.¹⁸

Alkoholy – z nižších alkoholů je to například ethanol, nejvyšších akceleračních aktivit je dosaženo v koncentraci 40-60 %.¹⁹ Při vyšších koncentracích způsobuje dehydrataci kůže. Ve farmacii patří mezi nejběžněji používaná rozpouštědla.¹⁸ Použitelné jsou i další alkoholy. Mastné alkoholy (dekanol, undekanol, laurylalkohol) urychlují permeaci, současně ale zvyšují TEWL, průtok krve kůží a způsobují zarudnutí kůže. Tridekanol a myristylalkohol mají nižší účinek na urychlení permeace a také způsobují větší dráždivost kůže. Oktanol a nonanol mohou být užitečnými urychlovači transdermální permeace vzhledem k menší dráždivosti kůže a přiměřeně dobrému akceleračnímu účinku. Kožní permeace a kožní iritace vyšších alkoholů u experimentálních zvířat byla srovnatelná s lidskou kůží. Další studie na lidských dobrovolnících s použitím mastných alkoholů v koncentraci 5% nebo nižší, mohou

poskytnout užitečné informace důležité ke stanovení akcelerační účinnosti u mastných alkoholů.²⁰

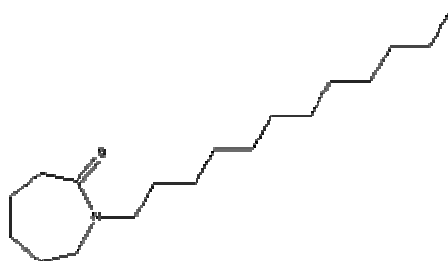
U vyšších alkoholů, byly také podrobně studovány vztahy mezi strukturou a účinkem, se zaměřením na délku řetězce, případně rozvětvení. Například byly zkoumány účinky konečného (terminálního) větvení řetězce na urychlení kožní permeace. Studie byla provedena u alkoholů a kyselin s délkou řetězce 8-12 uhlíků a bylo připraveno konečné větvení s methylem nebo ethylem. Tato transdermální permeace byla hodnocena „in vitro“ s použitím teofylinu jako modelu permeace, prasečí kůže a lineárního standardu se stejnou délkou řetězce. Konečné methylové větvení urychlilo kožní permeaci pouze v případě 12ti uhlíkatých kyselin. U kratších jednotek nebyl pozorován žádný efekt. Nicméně konečným ethylovým větvením bylo dosaženo významného zvýšení aktivity. U alkoholů změna koncového větvení řetězce tedy vedla k vyšší permeační aktivitě, zřejmě v důsledku rozmanitosti vztahu mezi účinkem a délkou řetězce.²¹

Dioly a acetaly – nemají výrazné akcelerační vlastnosti, působí spíše jako koakceleranty, to znamená, že vhodným způsobem doplňují v aktivitě účinnější urychlovače. Mechanismus jejich účinku spočívá pravděpodobně ve zvýšení koncentrace léčivé látky na kůži, popřípadě v kůži a tím ve zvýšení koncentračního spádu léčiva. Nejpožívanějšími látkami z této skupiny akceleračních jsou propylenglykol, 1,3-butandiol a 2-methyl-2,4-pentadiol.^{13, 16}

Močovina a její deriváty – močovina je součástí fyziologických hydratačních faktorů, běžně se používá v zevní dermatologické terapii individuálně připravovaných léčivých přípravků pro svoje keratoplastické a keratolytické účinky. Využití močoviny a jejích derivátů je založeno na jejich proteolytickém působení. Ke zvýšení akcelerační aktivity dojde přidáním koakceleračního propylenglykolu. Močovina, dodecylmočovina, didodecylmočovina a difenylmočovina byly testovány jako urychlovače kožní penetrace. Jako model pro penetraci byl použit 5-fluorouracil. Akcelerační aktivita však nebyla uspokojivá, teprve až po přidání propylenglykolu jako koakceleračního se zvýšila asi šestkrát.²²

Laktamy – nejpočetnější je skupina cyklických derivátů aminokyselin tedy laktamů. Nejvýznamnější jsou ϵ -laktamy. Prvním nadějným a účinným akceleračním

byl N-dodecyl-ε-kaprolaktam - Azone® (obr.4) - ten se ukázal jako velmi efektivní urychlovač penetrace a permeace širokého okruhu topicky aplikovaných léčiv. Mechanismus účinku je pravděpodobně založen na zvýšení fluidity intracelulární lipidové dvojvrstvy SC a také vyrovnání hydrofilně-lipofiních charakteristik kůže a léčiva. Účinným akcelerantem je však pouze v polárním prostředí. (během stanovení mechanismu účinku byl jako jednoduchý model lipidové dvojvrstvy zvolen fosfolipidový váček).²³ Byla také připravena celá řada analogů Azonu nazvaných jako „Azone-like enhancers“. Z jejich akcelerační aktivity vyplynulo, že podmínkou pro účinek je 5-7 členný nejlépe laktamový cyklus substituovaný alkylem o optimální délce 10-12 uhlíků.¹⁵ Z této skupiny je i původní český patentovaný urychlovač Transkarbam.



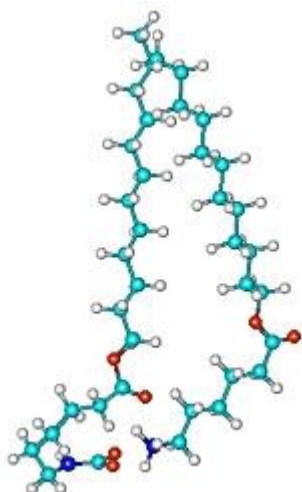
Obr. 4: Azon²⁴

Substituované amidy karboxylových kyselin - nejaktivnější z těchto látek, které byly zkoumány, byl dodecylamid kyseliny izomáselné. Jeho akcelerační poměr (AP) je 57,4. Akcelerační poměr udává urychlení modelového penetrantu ze vzorku s akcelerantem a vzorku bez akcelerantu. Mezi látky dříve testované jako akceleranty patří také N,N dimethylformamid a N,N-dimethylacetamid. Tyto látky ale ztrácejí v posledních letech na významu. Patří však mezi vynikající rozpouštědla léčiv. Interagují s proteiny v korneocytech a vytlačují z těchto struktur vodu. Mohou vytvářet depa léčiv v kůži a tím napomáhat rychlejšímu a mohutnějšímu transdermálnímu průniku. Jsou-li použity ve vysokých koncentracích, reagují rovněž s intercelulárními lipidy. Jejich účinnost je nižší než účinnost dimethylsulfoxidu.^{13, 15}

Terpeny - do této skupiny patří chemická individua i směsi těchto látek tedy přírodní silice. Nejúčinnější jsou askaridol a eukalyptol. Působí pravděpodobně narušením organizovaných lipidních struktur a interakcí s intercelulárními proteiny. Podle nejnovějších studií cyklický terpen, obsažený v eukalyptovém oleji, se jeví jako

nadějný urychlovač permeace pro transdermálně podaný ketorolac. Ketorolac je účinné analgetikum.²⁵

3.4 Transkarbam 12



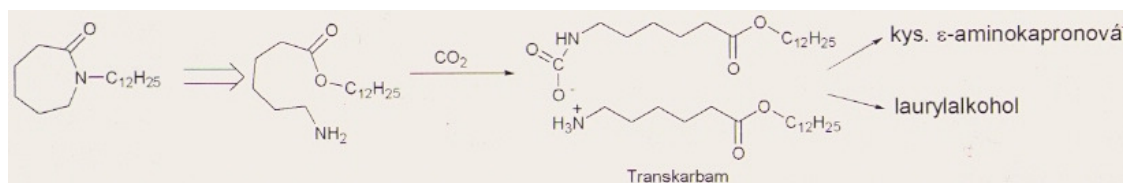
*Obr.5: Molekula Transkarbamu 12*²⁶

3.4.1 Základní charakteristika

Existuje velké množství látek s prokázanou transdermálně akcelerační aktivitou. Mezi vysoce účinné akceleranty transdermální permeace patří Transkarbam 12 (T12). Transkarbam 12 (obr.5) byl projektován s myšlenkou připravit novou sloučeninu, která bude mít flexibilnější molekulu a především její metabolické štěpy musí být netoxické.²⁶ S cílem získat flexibilní obměnu molekuly Azonu a zároveň vytvořit biodegradabilní akcelerační sloučeninu byly připraveny estery 6-aminohexanové kyseliny, jejichž stabilizací oxidem uhličitým vznikly symetrické soli karbamových kyselin nazvaných jako Transkarbamy. AP nejúčinnější sloučeniny se pohybuje okolo 45. Transkarbam 12 je důkazem toho, že i nové, a z hlediska biologických vlastností velmi zajímavé sloučeniny, mohou vznikat jednoduchými reakcemi jednoduchých sloučenin.¹⁵

Transkarbam 12 reprezentuje novou skupinu vysoce aktivních, netoxických transdermálních urychlovačů permeace. Z chemického hlediska se tedy jedná o sůl

karbamové kyseliny odvozené od dodecylesteru 6-aminohexanové kyseliny (obr.6). Díky jeho výborné akcelerační aktivitě přes lidskou kůži je vhodným akcelerantem pro mnohá transdermálně aplikovaná léčiva.



Obr. 6 : Odvození struktury Transkarbamu ¹⁴

Při pokojové teplotě se jeví uhlovodíkový řetězec T12 jako velmi uspořádaná struktura. Ale v rozmezí teplot 54-66 °C nastávají přechodná stadia. První přechodné stadium souvisí s přerušením karbamové struktury a změnou polární hlavy skupiny. Další přechodné stadium představuje tavení uhlovodíkového řetězce a následné uvolnění oxidu uhličitého. Čas potřebný pro přetvoření karbamové struktury a vyvázání oxidu uhličitého je závislý na mnoha faktorech a není možné přesně určit délku tohoto procesu.²⁷

3.4.2 Předpokládaný mechanismus účinku

Mezi léčiva, u kterých bylo použitím T12 dosaženo zvýšené transdermální permeace patří látky polární (např. 5-fluorouracil), látky střední polarit (aciclovir, theofylin) a nepochybně (griseofulvin).

Jakožto sůl karbamové kyseliny se T12 velmi snadno rozkládá v mírně kyselém prostředí, za uvolnění molekuly oxidu uhličitého a dvou molekul volného aminoesteru kyseliny 6-aminohexanové. Ve SC, kde se pH pohybuje kolem 5,5 se předpokládá, že rozpad polární hlavy bude probíhat výše uvedeným způsobem. Rozpad polární hlavy T12 v prostředí SC by měl způsobit narušení uspořádané struktury lipidových lamel. A to změnou nekovalentních vazeb (např. vodíkových) mezi polárními hlavami ceramidů nebo změnou konformace T12, ke které dojde při uvolnění oxidu uhličitého. Jeho působením jsou lamely reverzibilně rozvolněny a vzniklé nepravidelnosti pak představují cestu, kterou může léčivo proniknout do kůže.

Za vysokou aktivitu T12 je odpovědný karbamát. Samotný dodecylester kyseliny 6-aminohexanové nevykazuje žádnou akcelerační aktivitu, což bylo prokázáno tak, že pokus byl v tomto případě prováděn pod argonovou atmosférou, aby se zabránilo reakci se vzdušným oxidem uhličitým a tím se zamezilo samovolnému vzniku T12. Za zvýšenou akcelerační aktivitu T12 je zodpovědná i esterová skupina. Jejím nahrazením dochází ke snížení akcelerační aktivity, ale mění se také mechanismus působení.²⁸

3.4.3 Vliv změn alkoholové části esterů v koncovém řetězci Transkarbamu na aktivitu

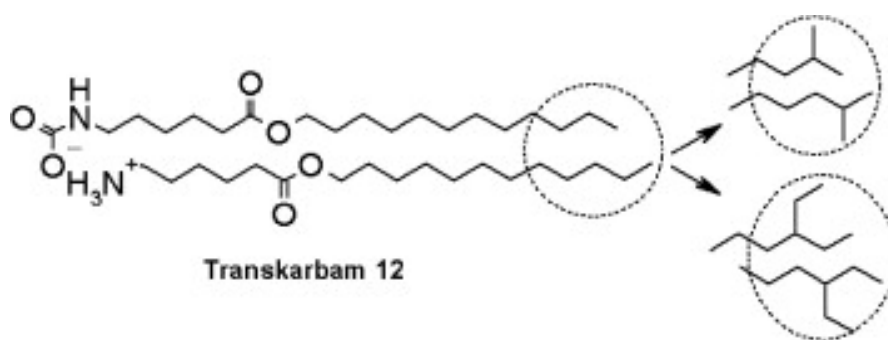
Byl studován vliv struktury koncového řetězce na aktivitu alkylesterů kyseliny 6-aminohexanové s různě dlouhými a větvenými alkoholy.

Výsledky ukázaly, že nejvyšší aktivitu mají analogy s nerozvětvenými koncovými řetězci. Jejich transdermálně akcelerační účinnost klesá v následujícím pořadí oktyl > decyl > dodecyl > undecyl > nonyl > heptyl. Vyšší akcelerační schopnost můžeme pozorovat u analogů se sudým počtem uhlíků v řetězci. Navíc pro aktivitu není rozhodující lipofilita řetězce, ale jeho optimální délka.

Větvení v alkoholové části esteru má za následek pokles akcelerační účinnosti, který se prohlubuje se vzrůstající délkou vedlejšího řetězce. Předpokládá se, že akcelerační aktivita není závislá na vzdálenosti bodu větvení od esterové funkční skupiny.

Ze studie dále vyplynulo, že cyklizace řetězce nebo přítomnost aromatického kruhu v řetězci silně potlačí akcelerační účinek těchto látek.²⁹

Další studie byla soustředěna na vliv malého symetrického konečného větvení a jeho urychlujících účinků. Byla připravena série T12 s konečným methylovým nebo ethylovým větvením a jejich účinek na urychlení permeace byl za tímto účelem srovnán s jejich lineárními analogy. Ukázaly se rozdíly v chování taktéž větvených alkoholů. Tím byla ještě více podpořena klíčová role ammonium-karbamátové polární hlavy v urychlovacím účinku T12.³⁰



Obr.7: Série Transkarbamu 12 s konečným ethylovým nebo methylovým větvením ³⁰

3.4.4 Vliv změn v kyselinové části esteru-spojovacím řetězcí na aktivitu

Cílem práce bylo syntetizovat a „in vitro“ otestovat série esterů kyselin. Předmětem studia byly tyto následující kyseliny: 6-aminohexanová, 7-aminoheptanová a 8-aminooktanová. Na základě výsledků bylo zjištěno, že prodlužování řetězce spojujícího esterovou funkční skupinu s aminoskupinou se projeví výrazným poklesem aktivity. ³¹

3.4.5 Budoucnost akceleračtů

Akceleranty jsou relativně novou skupinou látek a prozatím nejsou příliš běžnými součástmi komerčních lékových forem.

Na základě řady studií byla vyslovena hypotéza o možném mechanismu účinku akceleračtů transdermální permeace na bázi Transkarbamů . Jedná se především o schopnost sloučenin uvolnit kovalentně vázaný oxid uhličitý. S cílem dokázat, že míra pevnosti vazby oxidu uhličitého v molekule je přímo úměrná akcelerační aktivitě, byly na FaF UK v Hradci Králové připraveny další série sloučenin s cílem tuto hypotézu potvrdit.

Je však pouze otázkou času, kdy se akceleranty transdermální permeace stanou zcela obvyklými, neboť jejich použití v sobě skrývá další a hlavně nové možnosti farmakoterapie. ^{15, 32}

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Suroviny a materiál

| Název suroviny | Výrobce (resp.dodavatel) |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| Abil WE 09 | Goldschmidt, Darmstadt, Německo |
| Acetonitril pro HPLC | AlliedSignal, Seelze, Německo |
| Azid sodný p.a. | Fluka, Buchs, Švýcarsko |
| Diazolidinylurea (95%) | Sigma-Aldrich, Praha, ČR |
| Ethylhexylkarbonát | Goldschmidt, Darmstadt, Německo |
| Chlorid sodný, ČL 2005 | Lachema, Brno, ČR |
| Izopropylmyristát | Sigma-Aldrich, Praha, ČR |
| Kofein ČL 2005 | Kulich, Hradec Králové, ČR |
| Kyselina chlorovodíková 35%, p.a. | Penta Ing. Petr Švec, Praha, ČR |
| Kyselina mravenčí p.a. | Kulich, Hradec Králové, ČR |
| Methanol pro HPLC | AlliedSignal, Seelze, Německo |
| Stearan hlinitý ČL 2005 | Kulich, Hradec Králové, ČR |
| Transkarbam 12 | FaF UK, Hradec Králové, ČR |
| Trometamol | Sigma-Aldrich, Praha, ČR |
| Vazelína bílá | Kulich, Hradec Králové, ČR |
| Voda čištěná | FaF UK, Hradec Králové, ČR |
| Voda pro HPLC | FaF UK, Hradec Králové, ČR |

Pozn.: uvedené komerčně dostupné látky odpovídaly deklarované jakosti podle platných norem výrobců a dodavatelů.

Abil WE 09 je směsí polyglyceryl-4-izostearátu, cetylPEG/PPG-10/1 dimethiconu a hexyl-laurátu. Transkarbam 12 byl syntetizován na FaF UK v Hradci Králové doc. PharmDr.Alexandrem Hrabálkem, CSc.

Pro permeační biologické hodnocení obsahu aktivní formy T12 v krémech prakticky využitelného složení (s 30 % vodné fáze nebo 60 % vodné fáze - diplomová práce Jany Štikové) byly tyto krémy připraveny ze stejných surovin.

4.2 Přístroje k permeačnímu pokusu

| Typ přístroje | Výrobce |
|---|--|
| Analytické váhy | Sartorius, Göttingen, Německo |
| Digitální pH-metr GRYF 209L | Elektronické přístroje, Havlíčkův Brod, ČR |
| Elektronická míchačka | Variomag Labortechnik, München, Německo |
| HPLC sestava Agilent Technologies 1200 Series | Agilent Technologies, Palo Alto, USA |
| Kombinovaná lednička s mrazničkou | Liebherr, Ochsenhausen, Německo |
| Liberační zařízení SP 01 | FaF UK, Hradec Králové, ČR |
| Magnetická míchačka MM 2A | Laboratorní přístroje, Praha, ČR |
| Předvážky Kern 440-33 | Kern & Sohn, Balingen, Německo |
| Předvážky Kern 440-53N | Kern & Sohn, Balingen, Německo |
| Ultratermostat Haake L | Haake, Berlín, Německo |
| Ultrazvuková lázeň | Tesla, Vráble, ČR |

Sestava pro HPLC typ Agilent Technologies 1200 Series se skládá z izokratické pumpy G1390A, degaseru G1379B, autosampleru G1329A, termostatu G1316A a UV/VIS detektoru G1314B.

4.3 Biologický materiál

Pro permeační pokusy byly jako model podobný lidské kůži použity štěpy prasečích kůží. Tento materiál byl výhradně získáván ze samic prasete domácího *Sus scrofa f. domestica*. Boltce kanců se nepoužívají, protože díky hormonu testosteronu je pozměněn metabolismus i celková struktura kůže.

Kůže byla preparována pouze z vnější strany ušních boltců. Boltce potetované, zarudlé či jinak poškozené byly vyřazeny. Postup zpracování ušních boltců spočívá v několika bodech. Nejprve byl povrch celého boltce očištěn od povrchových nečistot a sražené krve. Holícím strojkem byly odstraněny štětiny. Pomocí skalpelu byla kůže stažena z vnější strany boltce a několikanásobně omyta fyziologickým roztokem (došlo k dokonalému odkrvení bez jakékoliv změny struktury celé pokožky). Takto připravené kůže byly použity pro další přípravu štěpů kůže.

Jedná se o přípravu štěpu, který je plnohodnotnou kůží v celé její tloušťce. Skládá se jak z vrchní části (SC), pokožky i podkoží. Postup spočívá v konzervaci (zastavení všech enzymatických procesů), zbavení přebytečné vody, označení, zatavení do polyethylenových folií a uchovávání při teplotách nižších než -20 °C v mrazničce. Roztok ke konzervaci byl připraven rozpuštěním azidu sodného (NaN_3) ve fyziologickém roztoku.

4.4 Oleokrém

4.4.1 Složení oleokrému

K ověření koncentrační závislosti účinku T12 byl připraven oleokrém s obsahem 30 % vodné fáze. Do něj byly zapracovány různé koncentrace T12 (vždy na úkor podílu hydrofobní fáze) anebo kofeinu (vždy na úkor podílu hydrofilní fáze). Procenta byla vztažena na celkovou hmotnost finálního krému. Transkarbam byl použit v těchto koncentracích: 0%, 0,3%, 0,5%, 0,7%, 1%. Kofein byl použit vždy v 1% koncentraci.

Složení oleokrémového základu s obsahem 30 % vody (rozpis na 100 gramů):

| Surovina | T12 0% | T12 0,3% | T12 0,5% | T12 0,7% | T12 1% |
|------------------------|-----------|-------------|-------------|-------------|-----------|
| Aluminium stearicum | 8,8 | 8,8 | 8,8 | 8,8 | 8,8 |
| Abil WE 09 | 8,8 | 8,8 | 8,8 | 8,8 | 8,8 |
| Isopropylum myristicum | 19,2 | 19,2 | 19,2 | 19,2 | 19,2 |
| Ethylhexylcarbonatum | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| Vaselinum album | 28,7 | 28,4 | 28,2 | 28,0 | 27,7 |
| T12 | 0 | 0,3 | 0,5 | 0,7 | 1,0 |
| Coffeinum | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| TRIS pufr pH 7,1 | ad 100,0 | ad 100,0 | ad 100,0 | ad 100,0 | ad 100,0 |

4.4.2 Postup přípravy oleokrému

A) Příprava vodné fáze:

1. Příprava TRIS pufru o pH 7,1 (s 0,6% diazolidinylurey)
2. Dispergace příslušného množství kofeinu v TRIS pufru za laboratorní teploty, event. do 35 °C (dostatečné; max. do 45 °C)

B) Příprava lipofilní fáze:

1. Důkladné rozetření stearanu hlinitého v izopropylmyristátu
2. Vpravení bílé vazelíny a ethylhexylkarbonátu a temperace na 45 °C
3. Alternativní vpravení T12
4. Vpravení Abil WE 09
5. Důkladné promísení všech lipofilních součástí

C) Emulgace za obvyčejné teploty

Postupné přidávání hydrofilní fáze (A) k lipofilní fázi (B) za stálého míchání při obvyčejné teplotě.

D) Homogenizace

Závěrečné promíchání krému pomocí ručního ponorného mixéru.

4.4.3 Složení a příprava TRIS pufru

Složení TRIS pufru o pH 7,1 (rozpis na 1000 gramů):

| Surovina | Množství (g) |
|-----------------------|--------------|
| Trometamol | 24,0 |
| Diazolidinylurea | 6,0 |
| Acidum hydrochloricum | q.s. |
| Aqua purificata | ad 1000,0 |

Příprava TRIS pufru o pH 7,1:

1. Rozpuštění trometamolu asi v 900 ml čištěné vody
2. Změření pH za stálého míchání (pH asi 12,3)
3. Přidání diazolidinylurey (hodnota pH klesne)
4. Úprava pH na 7,1 pomocí koncentrované kyseliny chlorovodíkové
5. Doplnění pufru (pH 7,1) na konečný objem 1000,0 ml (v odměrném válci)

4.5 Uspořádání permeačních pokusů

V první fázi byly kompletně sestaveny cely a naplněny akceptorovou fází. Po kompletním sestavení a naplnění bylo nezbytné, aby všechny cely měly stejnou stabilní teplotu 32°C. Toho se dosáhlo jejich umístěním do předem připravené vodní lázně vytemperované na požadovanou teplotu. Teplota cel trvala 1 hodinu. Současně bylo akceptorové médium promícháváno magnetickým míchadlem. Objem akceptorové fáze činil přibližně 18,0 ml. Po vytemperování cel byly nanášeny vzorky. Nanášením vzorku se rozumělo jeho umístění do přesně vymezeného prostoru o známé ploše na povrchu kůže. Tato plocha byla vymezena plexi-sklíčkem

Postup byl následující:

1. Před nanášením vzorku byla cela vyjmuta z lázně a osušena. Bylo nutné sundat vrchní díl a sejmut krycí sklíčko.

2. Vzorek byl nanášen na vnější povrch kůže v množství 0,4 g - tedy hmotnostně pomocí analytických vah. Exponovaná plocha kůže činila cca 2 cm².

3. Po nanesení vzorku byla cela opatrně zakryta krycím sklíčkem a kompletně sestavena. Bylo důležité zkontrolovat, zda v akceptorové fázi nedošlo k průniku vzduchu a vzniku bublinky. Poté byla cela vrácena zpět do vodní lázně.

Vzorky akceptorové fáze byly odebírány v množství 0,6 ml v předem stanovených časových intervalech, tedy po 10, 14, 18, 24, 34, 40 a 48 hodinách. Množství odebraného vzorku bylo doplněno stejným množstvím TRIS pufru. Při výpočtech plně korigovaných koncentrací kofeinu bylo doplňování akceptorové fáze zohledněno.

4.6 Podmínky pro stanovení kofeinu na HPLC

Množství kofeinu v odebraných vzorcích bylo stanoveno pomocí HPLC. Mobilní fáze o složení voda:methanol 75:25 okyselená 0,2% kyseliny mravenčí byla pumpována rychlostí 1 ml/min přes kolonu Agilent Eclipse XDB-C18 (velikost částic 5 µm, délka 150 mm, vnitřní průměr 4,6 mm, S/N USKH025859). Objem vzorku dávkovaného autosamplerem na kolonu činil 20 µl. Detekce byla prováděna UV spektrofotometricky při vlnové délce 272 nm. Retenční čas se pohyboval na úrovni 4,9 min.

4.7 Příprava kalibračních roztoků

Základní roztok byl připraven rozpuštěním 30 mg kofeinu ve 100 ml akceptorové fáze v odměrné baňce. Jeho následným ředěním, akceptorovou fází na analytických vahách, byly připraveny další kalibrační roztoky o koncentracích 15; 7,5; 3,75; 1,875; 0,9375 a 0,46875 mg/100ml. Přesná koncentrace každého kalibračního roztoku byla stanovena pomocí HPLC a to nejméně třikrát v průběhu jedné sekvence autosampleru. Z takto získaných dat byla pomocí lineární regrese v softwaru Agilent ChemStation sestrojena kalibrační přímka (viz Graf 1 v části Výsledky a diskuze).

4.8 Výsledky měření

Všechny potřebné údaje z permeačních pokusů jsou obsaženy v části Dokumentace.

Výsledky permeačních pokusů, vyjádřené formou fluxu J kofeinu, jsou pro jednotlivé série měření shrnuty v části Výsledky a diskuze.

5 DOKUMENTACE

Protokol 1

| | |
|------------------|--------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1 \text{ cm}^2$ |

$V_o = 17,2$

Kůže: 11.1.2008

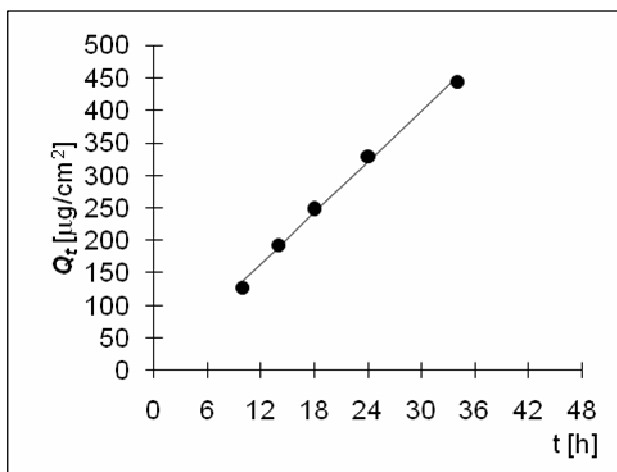
Donor: 0,0%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|---------|-------|
| 10 | 1,492 | 0,6 | 1,492 | 256,6 | 128,3 |
| 14 | 2,188 | 0,6 | 2,240 | 385,3 | 192,6 |
| 18 | 2,823 | 0,6 | 2,901 | 499,1 | 249,5 |
| 24 | 3,732 | 0,6 | 3,833 | 659,3 | 329,6 |
| 34 | 5,027 | 0,6 | 5,160 | 887,6 | 443,8 |
| 40 | 5,500 | 0,6 | 5,680 | 977,0 | 488,5 |
| 48 | 6,381 | 0,6 | 6,579 | 1 131,7 | 565,8 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 128,3 | 138,3 |
| 14 | 192,6 | 190,5 |
| 18 | 249,5 | 242,7 |
| 24 | 329,6 | 321,0 |
| 34 | 443,8 | 451,5 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 13,04961$ |
| Abs. člen | $q = 7,786655$ |
| Korelační koef. | $r = 0,997633$ |



Protokol 2

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,8$

Kůže: 11.1.2008

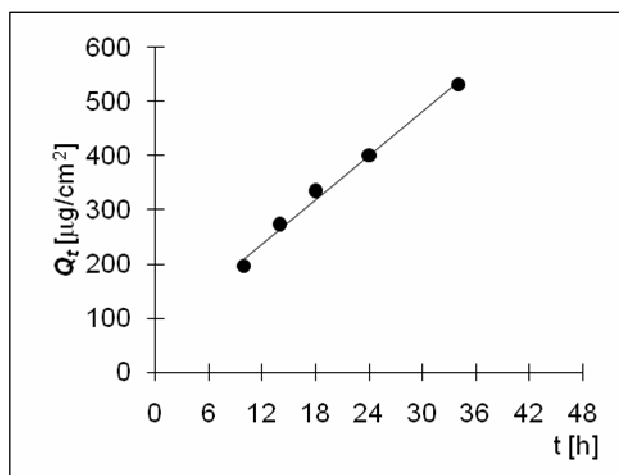
Donor: 0,0%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|---------|-------|
| 10 | 2,080 | 0,6 | 2,080 | 391,0 | 195,5 |
| 14 | 2,832 | 0,6 | 2,898 | 544,9 | 272,5 |
| 18 | 3,465 | 0,6 | 3,558 | 668,9 | 334,4 |
| 24 | 4,133 | 0,6 | 4,246 | 798,3 | 399,2 |
| 34 | 5,506 | 0,6 | 5,641 | 1 060,5 | 530,3 |
| 40 | 5,991 | 0,6 | 6,171 | 1 160,1 | 580,1 |
| 48 | 6,672 | 0,6 | 6,869 | 1 291,4 | 645,7 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 195,5 | 195,5 |
| 14 | 272,5 | 272,5 |
| 18 | 334,4 | 334,4 |
| 24 | 399,2 | 399,2 |
| 34 | 530,3 | 530,3 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 13,52749$ |
| Abs. člen | $q = 75,81684$ |
| Korelační koef. | $r = 0,995709$ |



Protokol 3

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| $\mathbf{Q_t}$ | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,6$

Kůže: 11.1.2008

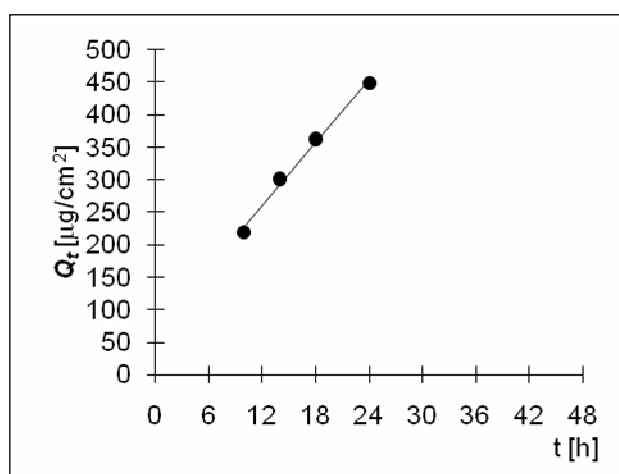
Donor: 0,0%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | $\mathbf{Q_t}$ |
|----|----------|------------------|-------|---------|----------------|
| 10 | 2,364 | 0,6 | 2,364 | 439,8 | 219,9 |
| 14 | 3,159 | 0,6 | 3,236 | 601,9 | 300,9 |
| 18 | 3,798 | 0,6 | 3,902 | 725,8 | 362,9 |
| 24 | 4,690 | 0,6 | 4,815 | 895,7 | 447,8 |
| 34 | 5,822 | 0,6 | 5,978 | 1 111,9 | 555,9 |
| 40 | 6,490 | 0,6 | 6,683 | 1 243,1 | 621,5 |
| 48 | 7,040 | 0,6 | 7,256 | 1 349,6 | 674,8 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|----|-------------|--------------|
| 10 | 219,9 | 228,3 |
| 14 | 300,9 | 292,7 |
| 18 | 362,9 | 357,0 |
| 24 | 447,8 | 453,6 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 4$ |
| Flux | $J = 16,08862$ |
| Abs.člen | $q = 67,42922$ |
| Korelační koef. | $r = 0,996296$ |



Protokol 4

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,2$

Kůž: 11.1.2008

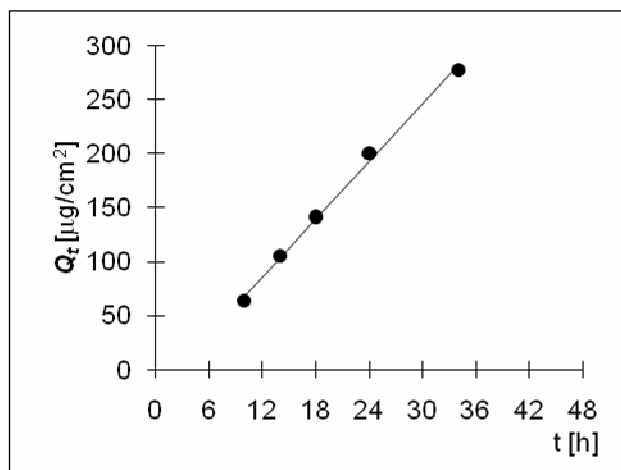
Donor: 1,0%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,742 | 0,6 | 0,742 | 127,6 | 63,8 |
| 14 | 1,193 | 0,6 | 1,219 | 209,6 | 104,8 |
| 18 | 1,603 | 0,6 | 1,645 | 283,0 | 141,5 |
| 24 | 2,265 | 0,6 | 2,322 | 399,4 | 199,7 |
| 34 | 3,139 | 0,6 | 3,220 | 553,8 | 276,9 |
| 40 | 3,602 | 0,6 | 3,715 | 638,9 | 319,5 |
| 48 | 4,187 | 0,6 | 4,316 | 742,4 | 371,2 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 63,8 | 68,5 |
| 14 | 104,8 | 104,1 |
| 18 | 141,5 | 139,6 |
| 24 | 199,7 | 192,9 |
| 34 | 276,9 | 281,6 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 8,879173$ |
| Abs. člen | $q = -20,2451$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998267$ |



Protokol 5

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,6$

Kůže: 11.1.2008

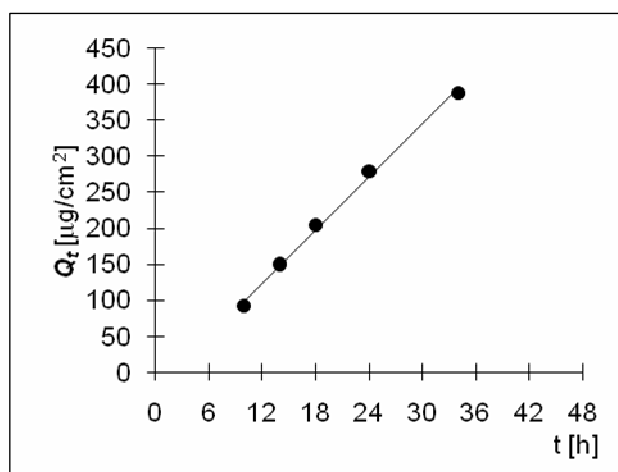
Donor: 1,0%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|---------|-------|
| 10 | 1,106 | 0,6 | 1,106 | 183,5 | 91,8 |
| 14 | 1,763 | 0,6 | 1,803 | 299,3 | 149,6 |
| 18 | 2,392 | 0,6 | 2,457 | 407,9 | 204,0 |
| 24 | 3,272 | 0,6 | 3,361 | 557,9 | 279,0 |
| 34 | 4,552 | 0,6 | 4,673 | 775,7 | 387,9 |
| 40 | 5,136 | 0,6 | 5,305 | 880,7 | 440,3 |
| 48 | 5,873 | 0,6 | 6,065 | 1 006,8 | 503,4 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 91,8 | 99,6 |
| 14 | 149,6 | 148,8 |
| 18 | 204,0 | 197,9 |
| 24 | 279,0 | 271,6 |
| 34 | 387,9 | 394,4 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 12,28019$ |
| Abs.člen | $q = -23,1663$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998152$ |



Protokol 6

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| $\mathbf{Q_t}$ | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,8$

Kůže: 11.1.2008

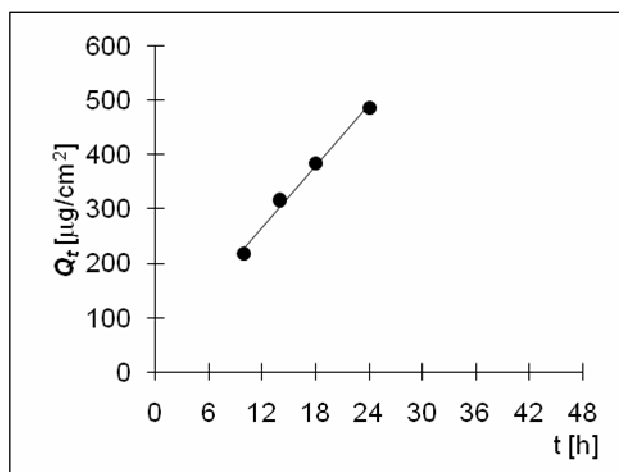
Donor: 1,0%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | $\mathbf{Q_t}$ |
|----|----------|------------------|-------|---------|----------------|
| 10 | 2,596 | 0,6 | 2,596 | 436,2 | 218,1 |
| 14 | 3,672 | 0,6 | 3,765 | 632,5 | 316,2 |
| 18 | 4,446 | 0,6 | 4,581 | 769,5 | 384,8 |
| 24 | 5,626 | 0,6 | 5,789 | 972,6 | 486,3 |
| 34 | 7,061 | 0,6 | 7,267 | 1 220,9 | 610,5 |
| 40 | 7,623 | 0,6 | 7,882 | 1 324,2 | 662,1 |
| 48 | 8,391 | 0,6 | 8,673 | 1 457,0 | 728,5 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|----|-------------|--------------|
| 10 | 218,1 | 228,9 |
| 14 | 316,2 | 304,2 |
| 18 | 384,8 | 379,6 |
| 24 | 486,3 | 492,7 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 4$ |
| Flux | $J = 18,84469$ |
| Abs. člen | $q = 40,40677$ |
| Korelační koef. | $r = 0,995723$ |



Protokol 7

| | |
|------------------|-----------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1cm^2$ |

$V_o = 18,5$

Kůže: 11.1.2008

Donor: 0,5%

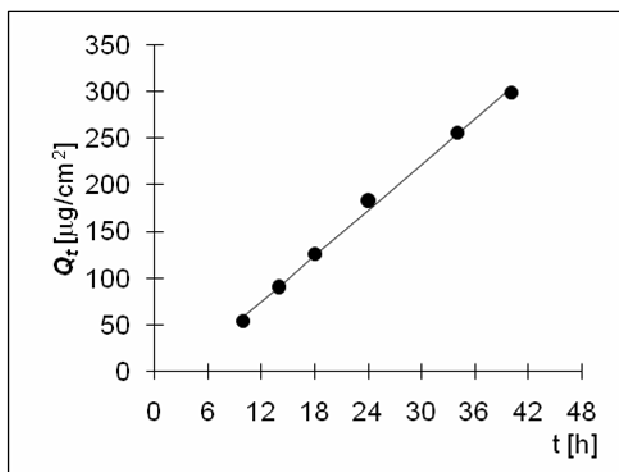
Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,581 | 0,6 | 0,581 | 107,4 | 53,7 |
| 14 | 0,958 | 0,6 | 0,977 | 180,7 | 90,3 |
| 18 | 1,327 | 0,6 | 1,359 | 251,4 | 125,7 |
| 24 | 1,932 | 0,6 | 1,976 | 365,5 | 182,8 |
| 34 | 2,698 | 0,6 | 2,762 | 511,0 | 255,5 |
| 40 | 3,134 | 0,6 | 3,224 | 596,4 | 298,2 |
| 48 | 3,605 | 0,6 | 3,710 | 686,4 | 343,2 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 53,7 | 59,0 |
| 14 | 90,3 | 91,6 |
| 18 | 125,7 | 124,2 |
| 24 | 182,8 | 173,1 |
| 34 | 255,5 | 254,7 |
| 40 | 298,2 | 303,6 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 6$ |
| Flux | $J = 8,153767$ |
| Abs. člen | $q = -22,5504$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998318$ |



Protokol 8

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,7$

Kůže: 11.1.2008

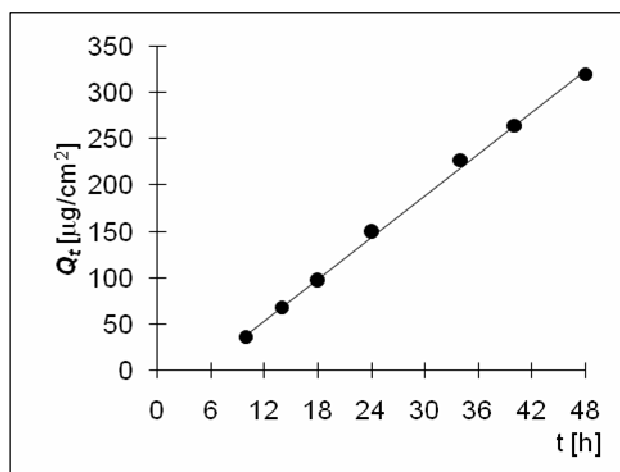
Donor: 0,5%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,383 | 0,6 | 0,383 | 71,6 | 35,8 |
| 14 | 0,708 | 0,6 | 0,720 | 134,6 | 67,3 |
| 18 | 1,017 | 0,6 | 1,040 | 194,5 | 97,3 |
| 24 | 1,571 | 0,6 | 1,604 | 299,9 | 150,0 |
| 34 | 2,367 | 0,6 | 2,419 | 452,3 | 226,1 |
| 40 | 2,747 | 0,6 | 2,824 | 528,1 | 264,1 |
| 48 | 3,321 | 0,6 | 3,412 | 638,0 | 319,0 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 35,8 | 38,9 |
| 14 | 67,3 | 69,0 |
| 18 | 97,3 | 99,1 |
| 24 | 150,0 | 144,2 |
| 34 | 226,1 | 219,3 |
| 40 | 264,1 | 264,4 |
| 48 | 319,0 | 324,6 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 7,517133$ |
| Abs. člen | $q = -36,2379$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999069$ |



Protokol 9

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,8$

Kůže: 11.1.2008

Donor: 0,5%

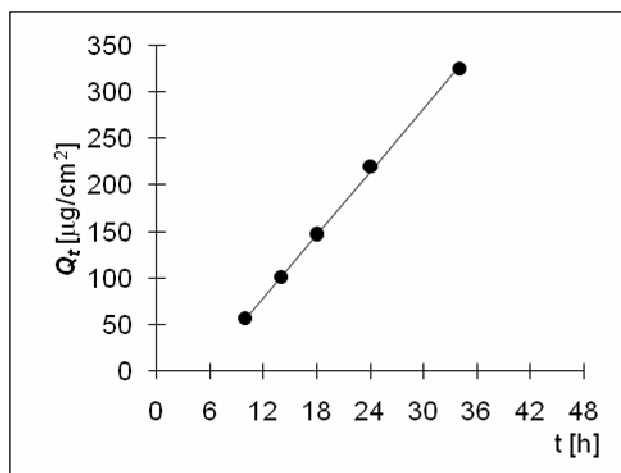
Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,674 | 0,6 | 0,674 | 113,2 | 56,6 |
| 14 | 1,171 | 0,6 | 1,195 | 200,8 | 100,4 |
| 18 | 1,709 | 0,6 | 1,752 | 294,3 | 147,1 |
| 24 | 2,558 | 0,6 | 2,620 | 440,2 | 220,1 |
| 34 | 3,781 | 0,6 | 3,875 | 651,0 | 325,5 |
| 40 | 4,290 | 0,6 | 4,429 | 744,0 | 372,0 |
| 48 | 5,002 | 0,6 | 5,160 | 866,9 | 433,4 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 56,6 | 57,0 |
| 14 | 100,4 | 102,2 |
| 18 | 147,1 | 147,4 |
| 24 | 220,1 | 215,1 |
| 34 | 325,5 | 328,0 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 11,29285$ |
| Abs. člen | $q = -55,9203$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999614$ |



Protokol 10

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,7$

Kůže: 11.1.2008

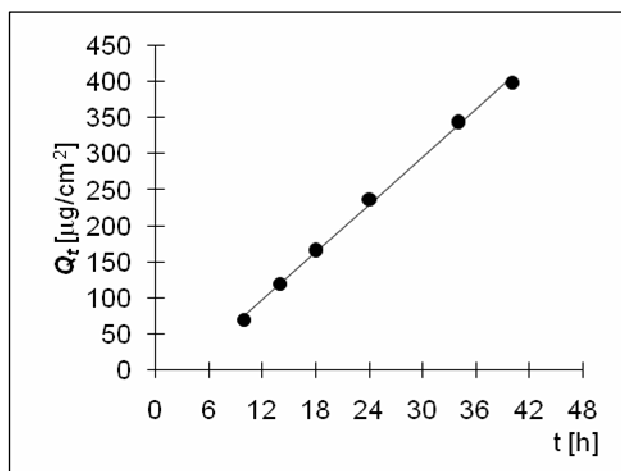
Donor: 0,5%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,756 | 0,6 | 0,756 | 141,4 | 70,7 |
| 14 | 1,257 | 0,6 | 1,282 | 239,7 | 119,8 |
| 18 | 1,743 | 0,6 | 1,784 | 333,5 | 166,8 |
| 24 | 2,476 | 0,6 | 2,534 | 473,8 | 236,9 |
| 34 | 3,603 | 0,6 | 3,684 | 688,9 | 344,5 |
| 40 | 4,143 | 0,6 | 4,262 | 796,9 | 398,5 |
| 48 | 4,855 | 0,6 | 4,992 | 933,5 | 466,8 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 70,7 | 76,5 |
| 14 | 119,8 | 120,4 |
| 18 | 166,8 | 164,3 |
| 24 | 236,9 | 230,2 |
| 34 | 344,5 | 339,9 |
| 40 | 398,5 | 405,8 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 6$ |
| Flux | $J = 10,97683$ |
| Abs. člen | $q = -33,2717$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999036$ |



Protokol 11

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,0$

Kůže: 11.1.2008

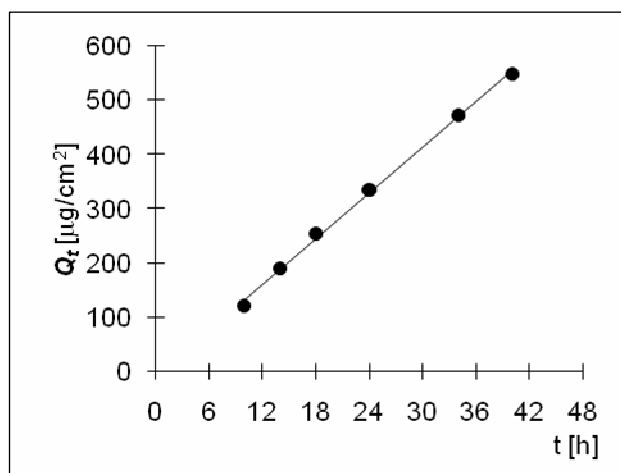
Donor: 0,3%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|---------|-------|
| 10 | 1,525 | 0,6 | 1,525 | 244,0 | 122,0 |
| 14 | 2,320 | 0,6 | 2,377 | 380,4 | 190,2 |
| 18 | 3,084 | 0,6 | 3,174 | 507,8 | 253,9 |
| 24 | 4,066 | 0,6 | 4,185 | 669,6 | 334,8 |
| 34 | 5,741 | 0,6 | 5,898 | 943,6 | 471,8 |
| 40 | 6,620 | 0,6 | 6,841 | 1 094,6 | 547,3 |
| 48 | 7,605 | 0,6 | 7,862 | 1 257,9 | 628,9 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 122,0 | 132,8 |
| 14 | 190,2 | 189,0 |
| 18 | 253,9 | 245,1 |
| 24 | 334,8 | 329,4 |
| 34 | 471,8 | 469,8 |
| 40 | 547,3 | 554,0 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 6$ |
| Flux | $J = 14,03993$ |
| Abs. člen | $q = -7,60804$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998988$ |



Protokol 12

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| $\mathbf{Q_t}$ | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,8$

Kůže: 11.1.2008

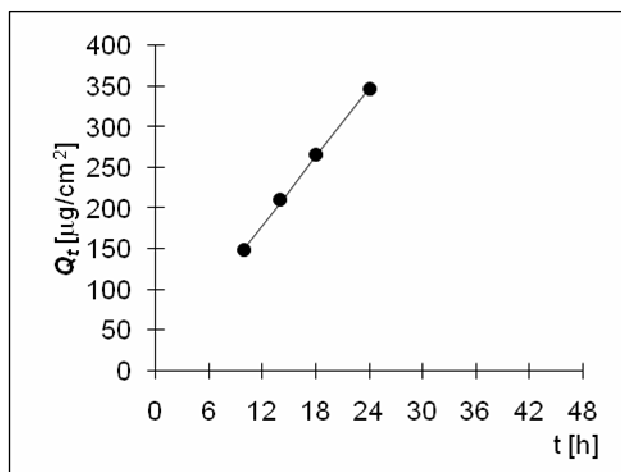
Donor: 0,3%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | $\mathbf{Q_t}$ |
|----|----------|------------------|-------|---------|----------------|
| 10 | 1,672 | 0,6 | 1,672 | 297,7 | 148,8 |
| 14 | 2,313 | 0,6 | 2,370 | 421,8 | 210,9 |
| 18 | 2,915 | 0,6 | 2,995 | 533,1 | 266,6 |
| 24 | 3,802 | 0,6 | 3,903 | 694,7 | 347,4 |
| 34 | 4,454 | 0,6 | 4,585 | 816,2 | 408,1 |
| 40 | 4,874 | 0,6 | 5,028 | 895,0 | 447,5 |
| 48 | 5,780 | 0,6 | 5,949 | 1 059,0 | 529,5 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|----|-------------|--------------|
| 10 | 148,8 | 151,7 |
| 14 | 210,9 | 208,1 |
| 18 | 266,6 | 264,6 |
| 24 | 347,4 | 349,3 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 4$ |
| Flux | $J = 14,1165$ |
| Abs. člen | $q = 10,49204$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999456$ |



Protokol 13

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,2$

Kůže: 11.1.2008

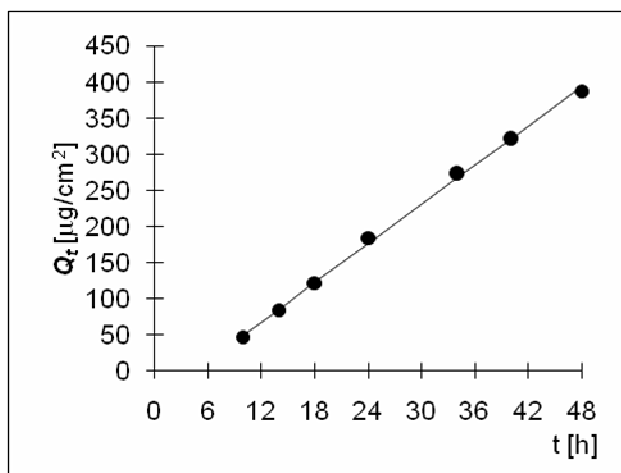
Donor: 0,3%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,579 | 0,6 | 0,579 | 93,8 | 46,9 |
| 14 | 1,016 | 0,6 | 1,038 | 168,1 | 84,1 |
| 18 | 1,460 | 0,6 | 1,498 | 242,8 | 121,4 |
| 24 | 2,221 | 0,6 | 2,277 | 368,8 | 184,4 |
| 34 | 3,295 | 0,6 | 3,380 | 547,5 | 273,8 |
| 40 | 3,852 | 0,6 | 3,977 | 644,3 | 322,1 |
| 48 | 4,630 | 0,6 | 4,778 | 774,0 | 387,0 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 46,9 | 50,6 |
| 14 | 84,1 | 86,7 |
| 18 | 121,4 | 122,8 |
| 24 | 184,4 | 177,0 |
| 34 | 273,8 | 267,3 |
| 40 | 322,1 | 321,5 |
| 48 | 387,0 | 393,7 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 9,029787$ |
| Abs. člen | $q = -39,7069$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999162$ |



Protokol 14

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,4$

Kůže: 11.1.2008

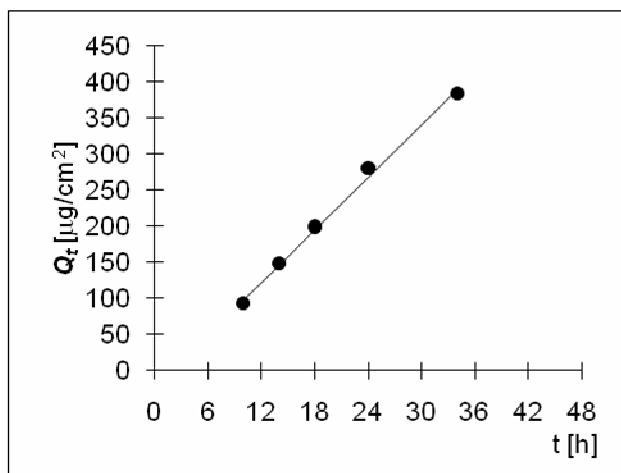
Donor: 0,3%

Měření: P1

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|---------|-------|
| 10 | 1,066 | 0,6 | 1,066 | 185,5 | 92,7 |
| 14 | 1,656 | 0,6 | 1,692 | 294,5 | 147,2 |
| 18 | 2,224 | 0,6 | 2,283 | 397,2 | 198,6 |
| 24 | 3,131 | 0,6 | 3,210 | 558,6 | 279,3 |
| 34 | 4,284 | 0,6 | 4,395 | 764,7 | 382,3 |
| 40 | 4,987 | 0,6 | 5,138 | 894,1 | 447,0 |
| 48 | 5,685 | 0,6 | 5,862 | 1 020,0 | 510,0 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 92,7 | 99,0 |
| 14 | 147,2 | 147,4 |
| 18 | 198,6 | 195,8 |
| 24 | 279,3 | 268,5 |
| 34 | 382,3 | 389,5 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 12,10723$ |
| Abs. člen | $q = -22,1056$ |
| Korelační koef. | $r = 0,997922$ |



Protokol 15

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,4$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,0%

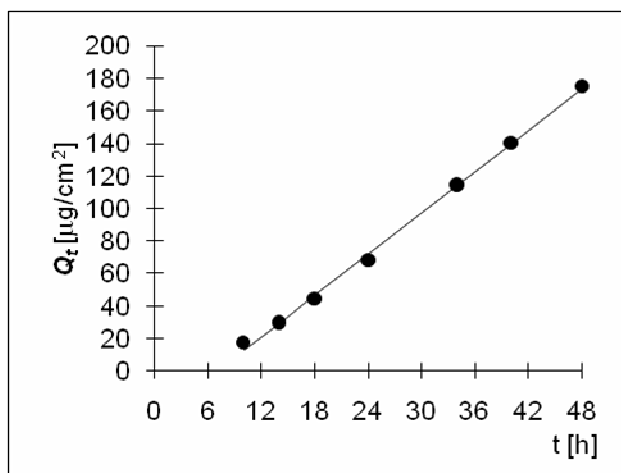
Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,213 | 0,6 | 0,213 | 34,9 | 17,4 |
| 14 | 0,354 | 0,6 | 0,362 | 59,3 | 29,7 |
| 18 | 0,528 | 0,6 | 0,542 | 88,8 | 44,4 |
| 24 | 0,812 | 0,6 | 0,832 | 136,4 | 68,2 |
| 34 | 1,363 | 0,6 | 1,394 | 228,6 | 114,3 |
| 40 | 1,658 | 0,6 | 1,708 | 280,2 | 140,1 |
| 48 | 2,070 | 0,6 | 2,132 | 349,7 | 174,8 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 17,4 | 13,0 |
| 14 | 29,7 | 29,9 |
| 18 | 44,4 | 46,8 |
| 24 | 68,2 | 72,1 |
| 34 | 114,3 | 114,3 |
| 40 | 140,1 | 139,6 |
| 48 | 174,8 | 173,3 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 4,217892$ |
| Abs. člen | $q = -29,1463$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999006$ |



Protokol 16

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,6$

Kůže: 13.3.2008

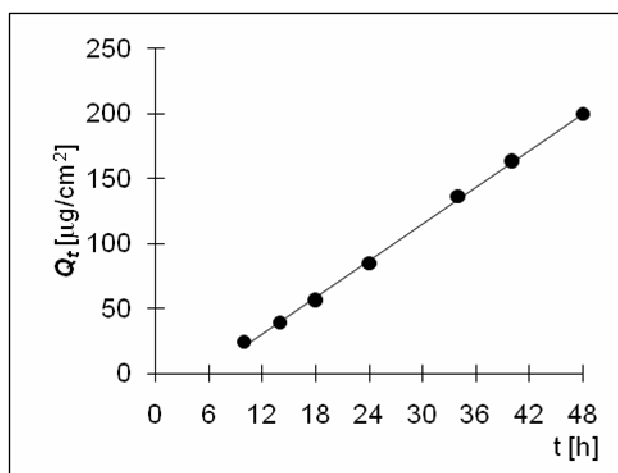
Donor: 0,0%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,295 | 0,6 | 0,295 | 49,1 | 24,5 |
| 14 | 0,464 | 0,6 | 0,475 | 78,8 | 39,4 |
| 18 | 0,663 | 0,6 | 0,680 | 113,0 | 56,5 |
| 24 | 0,991 | 0,6 | 1,016 | 168,6 | 84,3 |
| 34 | 1,601 | 0,6 | 1,638 | 271,9 | 136,0 |
| 40 | 1,905 | 0,6 | 1,964 | 326,1 | 163,0 |
| 48 | 2,327 | 0,6 | 2,398 | 398,0 | 199,0 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 24,5 | 24,5 |
| 14 | 39,4 | 39,4 |
| 18 | 56,5 | 56,5 |
| 24 | 84,3 | 84,3 |
| 34 | 136,0 | 136,0 |
| 40 | 163,0 | 163,0 |
| 48 | 199,0 | 199,0 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 4,690451$ |
| Abs. člen | $q = -25,5808$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999454$ |



Protokol 17

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,0$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,0%

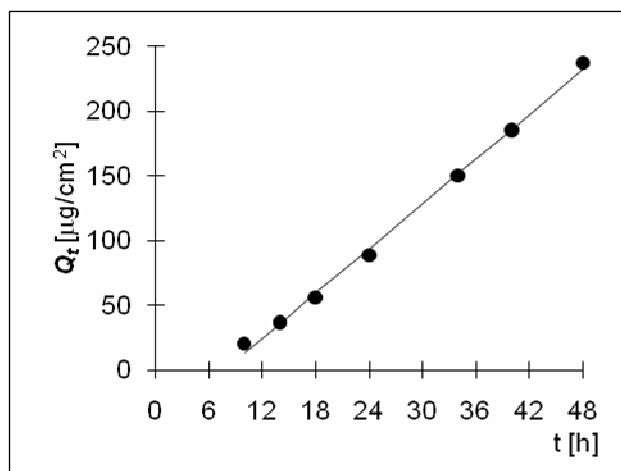
Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,243 | 0,6 | 0,243 | 41,4 | 20,7 |
| 14 | 0,422 | 0,6 | 0,431 | 73,2 | 36,6 |
| 18 | 0,643 | 0,6 | 0,658 | 111,9 | 56,0 |
| 24 | 1,018 | 0,6 | 1,041 | 177,0 | 88,5 |
| 34 | 1,731 | 0,6 | 1,768 | 300,5 | 150,3 |
| 40 | 2,116 | 0,6 | 2,178 | 370,3 | 185,2 |
| 48 | 2,711 | 0,6 | 2,788 | 473,9 | 237,0 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 20,7 | 13,5 |
| 14 | 36,6 | 36,6 |
| 18 | 56,0 | 59,6 |
| 24 | 88,5 | 94,1 |
| 34 | 150,3 | 151,7 |
| 40 | 185,2 | 186,3 |
| 48 | 237,0 | 232,3 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 5,757718$ |
| Abs. člen | $q = -44,0488$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998492$ |



Protokol 18

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| $\mathbf{Q_t}$ | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,6$

Kůže: 13.3.2008

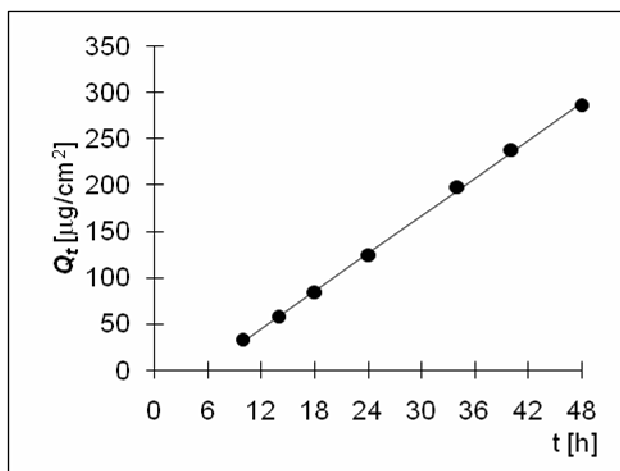
Donor: 1,0%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | $\mathbf{Q_t}$ |
|----|----------|------------------|-------|-------|----------------|
| 10 | 0,405 | 0,6 | 0,405 | 67,2 | 33,6 |
| 14 | 0,682 | 0,6 | 0,697 | 115,7 | 57,8 |
| 18 | 0,994 | 0,6 | 1,019 | 169,2 | 84,6 |
| 24 | 1,462 | 0,6 | 1,498 | 248,7 | 124,4 |
| 34 | 2,328 | 0,6 | 2,382 | 395,4 | 197,7 |
| 40 | 2,779 | 0,6 | 2,865 | 475,6 | 237,8 |
| 48 | 3,342 | 0,6 | 3,445 | 571,9 | 286,0 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|----|-------------|--------------|
| 10 | 33,6 | 31,9 |
| 14 | 57,8 | 59,0 |
| 18 | 84,6 | 86,0 |
| 24 | 124,4 | 126,6 |
| 34 | 197,7 | 194,3 |
| 40 | 237,8 | 234,9 |
| 48 | 286,0 | 289,1 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 6,768391$ |
| Abs. člen | $q = -35,7935$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999631$ |



Protokol 19

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,4$

Kůže: 13.3.2008

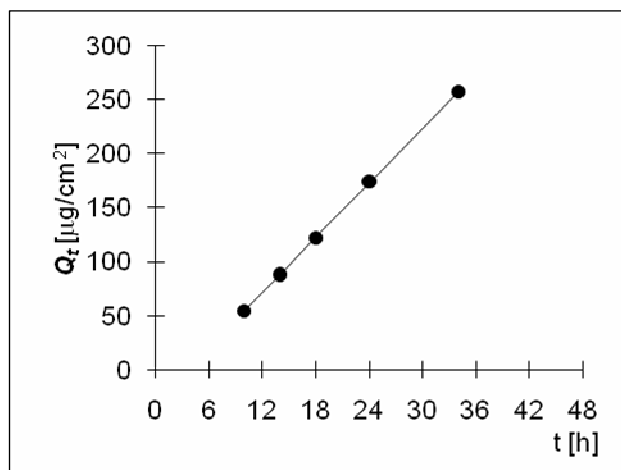
Donor: 1,0%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,631 | 0,6 | 0,631 | 109,9 | 54,9 |
| 14 | 0,997 | 0,6 | 1,019 | 177,3 | 88,6 |
| 18 | 1,365 | 0,6 | 1,400 | 243,6 | 121,8 |
| 24 | 1,952 | 0,6 | 2,001 | 348,1 | 174,1 |
| 34 | 2,882 | 0,6 | 2,951 | 513,5 | 256,8 |
| 40 | 3,044 | 0,6 | 3,146 | 547,4 | 273,7 |
| 48 | 3,741 | 0,6 | 3,849 | 669,7 | 334,9 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 54,9 | 55,0 |
| 14 | 88,6 | 88,7 |
| 18 | 121,8 | 122,4 |
| 24 | 174,1 | 173,0 |
| 34 | 256,8 | 257,2 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 8,427144$ |
| Abs. člen | $q = -29,2988$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999965$ |



Protokol 20

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,8$

Kůže: 13.3.2008

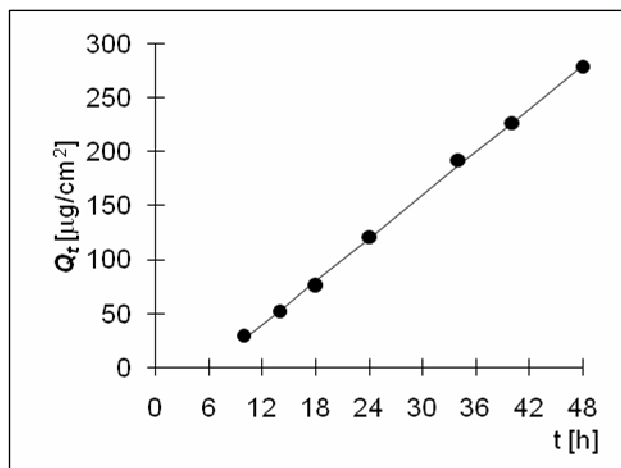
Donor: 1,0%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,353 | 0,6 | 0,353 | 59,3 | 29,7 |
| 14 | 0,605 | 0,6 | 0,617 | 103,7 | 51,8 |
| 18 | 0,887 | 0,6 | 0,909 | 152,7 | 76,3 |
| 24 | 1,406 | 0,6 | 1,438 | 241,6 | 120,8 |
| 34 | 2,234 | 0,6 | 2,285 | 383,9 | 191,9 |
| 40 | 2,610 | 0,6 | 2,691 | 452,1 | 226,1 |
| 48 | 3,215 | 0,6 | 3,311 | 556,3 | 278,2 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 29,7 | 27,0 |
| 14 | 51,8 | 53,7 |
| 18 | 76,3 | 80,3 |
| 24 | 120,8 | 120,2 |
| 34 | 191,9 | 186,8 |
| 40 | 226,1 | 226,8 |
| 48 | 278,2 | 280,0 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 6,658162$ |
| Abs. člen | $q = -39,5608$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999473$ |



Protokol 21

| | |
|------------------|--------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1 \text{ cm}^2$ |

$V_o = 17,4$

Kůže: 13.3.2008

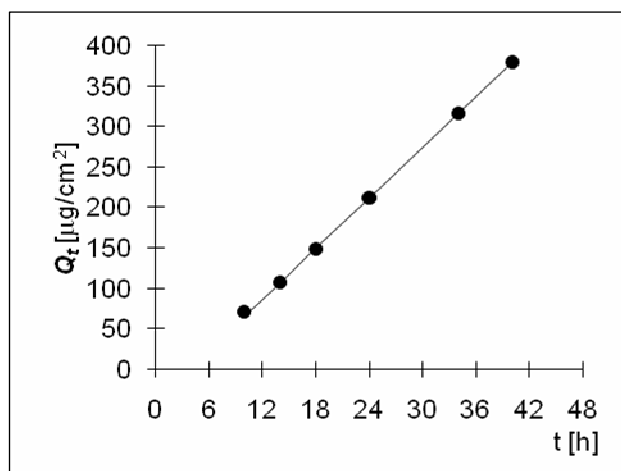
Donor: 0,5%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,812 | 0,6 | 0,812 | 141,3 | 70,6 |
| 14 | 1,196 | 0,6 | 1,224 | 212,9 | 106,5 |
| 18 | 1,656 | 0,6 | 1,698 | 295,5 | 147,8 |
| 24 | 2,372 | 0,6 | 2,431 | 423,0 | 211,5 |
| 34 | 3,547 | 0,6 | 3,631 | 631,8 | 315,9 |
| 40 | 4,234 | 0,6 | 4,359 | 758,5 | 379,3 |
| 48 | 4,955 | 0,6 | 5,105 | 888,3 | 444,1 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 70,6 | 67,0 |
| 14 | 106,5 | 108,4 |
| 18 | 147,8 | 149,9 |
| 24 | 211,5 | 212,2 |
| 34 | 315,9 | 315,9 |
| 40 | 379,3 | 378,1 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 6$ |
| Flux | $J = 10,37244$ |
| Abs. člen | $q = -36,7723$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999837$ |



Protokol 22

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,4$

Kůže: 13.3.2008

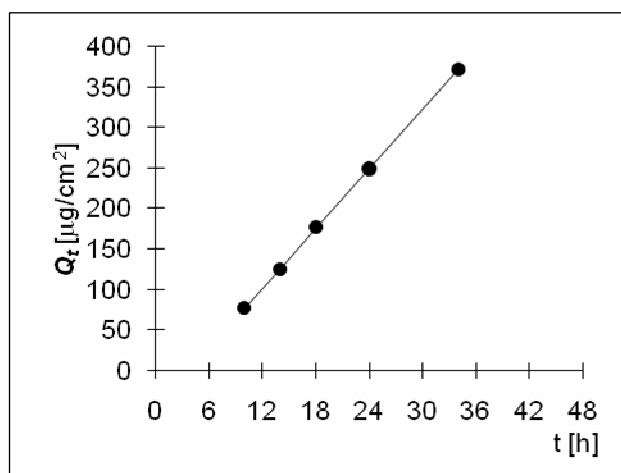
Donor: 0,5%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,949 | 0,6 | 0,949 | 155,6 | 77,8 |
| 14 | 1,489 | 0,6 | 1,524 | 249,9 | 125,0 |
| 18 | 2,103 | 0,6 | 2,159 | 354,1 | 177,0 |
| 24 | 2,964 | 0,6 | 3,043 | 499,1 | 249,5 |
| 34 | 4,427 | 0,6 | 4,538 | 744,3 | 372,1 |
| 40 | 4,902 | 0,6 | 5,068 | 831,1 | 415,6 |
| 48 | 5,671 | 0,6 | 5,857 | 960,5 | 480,2 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 77,8 | 77,4 |
| 14 | 125,0 | 126,6 |
| 18 | 177,0 | 175,7 |
| 24 | 249,5 | 249,5 |
| 34 | 372,1 | 372,4 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 12,29015$ |
| Abs. člen | $q = -45,5092$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999958$ |



Protokol 23

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,2$

Kůže: 13.3.2008

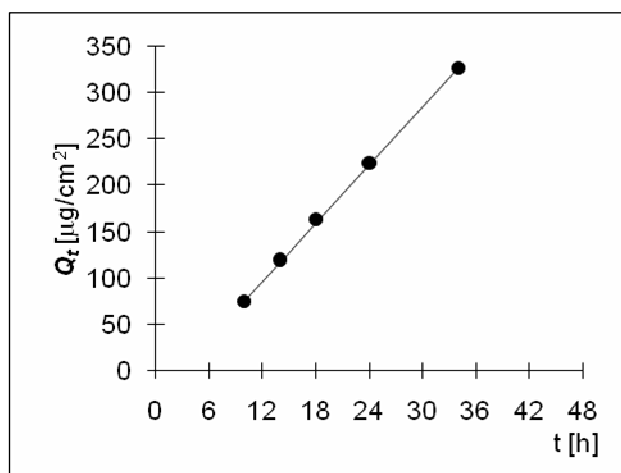
Donor: 0,5%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,918 | 0,6 | 0,918 | 148,7 | 74,3 |
| 14 | 1,436 | 0,6 | 1,470 | 238,1 | 119,1 |
| 18 | 1,957 | 0,6 | 2,011 | 325,8 | 162,9 |
| 24 | 2,688 | 0,6 | 2,763 | 447,5 | 223,8 |
| 34 | 3,922 | 0,6 | 4,025 | 652,0 | 326,0 |
| 40 | 4,315 | 0,6 | 4,464 | 723,2 | 361,6 |
| 48 | 5,267 | 0,6 | 5,432 | 880,0 | 440,0 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 74,3 | 76,8 |
| 14 | 119,1 | 118,6 |
| 18 | 162,9 | 160,3 |
| 24 | 223,8 | 223,0 |
| 34 | 326,0 | 327,4 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 10,44216$ |
| Abs. člen | $q = -27,6282$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999799$ |



Protokol 24

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,5$

Kůže: 13.3.2008

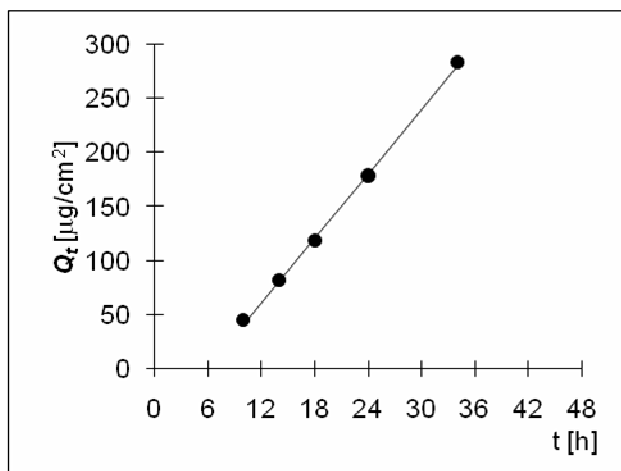
Donor: 0,5%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,486 | 0,6 | 0,486 | 89,8 | 44,9 |
| 14 | 0,862 | 0,6 | 0,878 | 162,4 | 81,2 |
| 18 | 1,253 | 0,6 | 1,281 | 237,0 | 118,5 |
| 24 | 1,888 | 0,6 | 1,929 | 357,0 | 178,5 |
| 34 | 3,000 | 0,6 | 3,062 | 566,5 | 283,2 |
| 40 | 3,563 | 0,6 | 3,662 | 677,4 | 338,7 |
| 48 | 4,295 | 0,6 | 4,414 | 816,6 | 408,3 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 44,9 | 41,7 |
| 14 | 81,2 | 81,5 |
| 18 | 118,5 | 121,3 |
| 24 | 178,5 | 181,1 |
| 34 | 283,2 | 280,7 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 9,960342$ |
| Abs. člen | $q = -57,9432$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999539$ |



Protokol 25

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,4$

Kůže: 13.3.2008

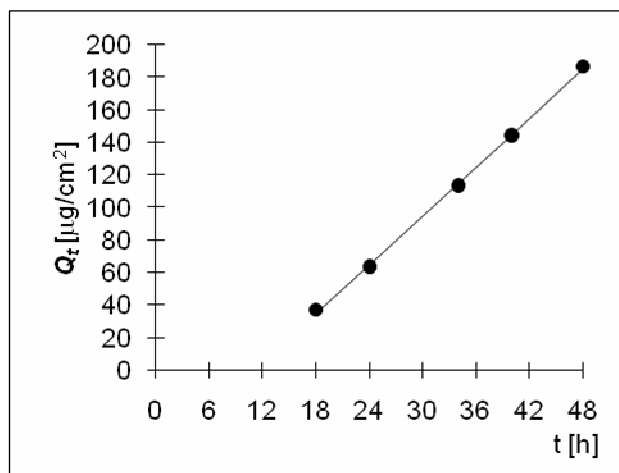
Donor: 0,3%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,135 | 0,6 | 0,135 | 24,8 | 12,4 |
| 14 | 0,260 | 0,6 | 0,264 | 48,6 | 24,3 |
| 18 | 0,394 | 0,6 | 0,403 | 74,1 | 37,1 |
| 24 | 0,678 | 0,6 | 0,691 | 127,2 | 63,6 |
| 34 | 1,213 | 0,6 | 1,236 | 227,3 | 113,7 |
| 40 | 1,530 | 0,6 | 1,570 | 288,9 | 144,4 |
| 48 | 1,981 | 0,6 | 2,032 | 373,9 | 187,0 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 18 | 37,1 | 35,0 |
| 24 | 63,6 | 65,1 |
| 34 | 113,7 | 115,2 |
| 40 | 144,4 | 145,2 |
| 48 | 187,0 | 185,3 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 5,010203$ |
| Abs. člen | $q = -55,1916$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999593$ |



Protokol 26

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,4$

Kůže: 13.3.2008

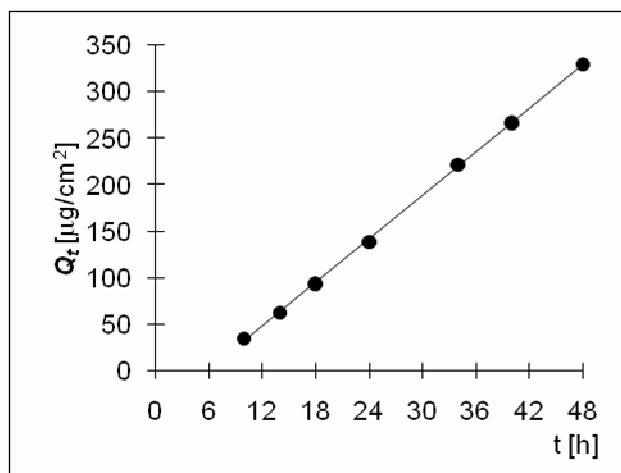
Donor: 0,3%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,388 | 0,6 | 0,388 | 71,4 | 35,7 |
| 14 | 0,673 | 0,6 | 0,685 | 126,1 | 63,0 |
| 18 | 1,003 | 0,6 | 1,026 | 188,7 | 94,4 |
| 24 | 1,480 | 0,6 | 1,514 | 278,6 | 139,3 |
| 34 | 2,369 | 0,6 | 2,419 | 445,0 | 222,5 |
| 40 | 2,826 | 0,6 | 2,905 | 534,5 | 267,3 |
| 48 | 3,495 | 0,6 | 3,589 | 660,4 | 330,2 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 35,7 | 32,8 |
| 14 | 63,0 | 64,1 |
| 18 | 94,4 | 95,4 |
| 24 | 139,3 | 142,3 |
| 34 | 222,5 | 220,5 |
| 40 | 267,3 | 267,4 |
| 48 | 330,2 | 330,0 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 7,819869$ |
| Abs. člen | $q = -45,3928$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999839$ |



Protokol 27

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,6$

Kůže: 13.3.2008

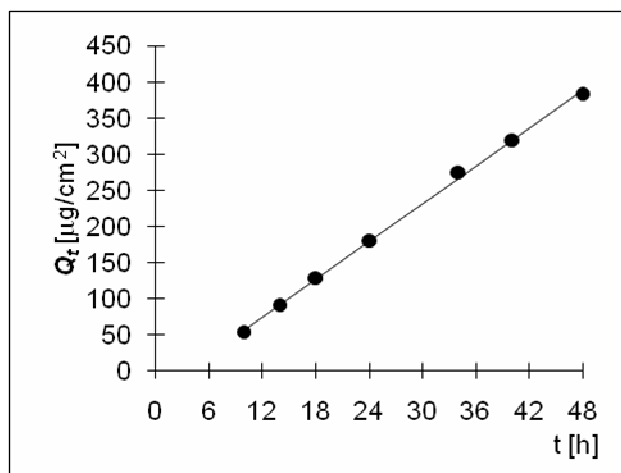
Donor: 0,3%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,582 | 0,6 | 0,582 | 108,3 | 54,1 |
| 14 | 0,966 | 0,6 | 0,985 | 183,2 | 91,6 |
| 18 | 1,350 | 0,6 | 1,382 | 257,0 | 128,5 |
| 24 | 1,898 | 0,6 | 1,942 | 361,3 | 180,6 |
| 34 | 2,896 | 0,6 | 2,958 | 550,3 | 275,1 |
| 40 | 3,333 | 0,6 | 3,428 | 637,6 | 318,8 |
| 48 | 4,007 | 0,6 | 4,118 | 765,9 | 382,9 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 54,1 | 57,8 |
| 14 | 91,6 | 92,6 |
| 18 | 128,5 | 127,4 |
| 24 | 180,6 | 179,7 |
| 34 | 275,1 | 266,7 |
| 40 | 318,8 | 319,0 |
| 48 | 382,9 | 388,6 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 8,706517$ |
| Abs. člen | $q = -29,2893$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999349$ |



Protokol 28

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,6$

Kůže: 13.3.2008

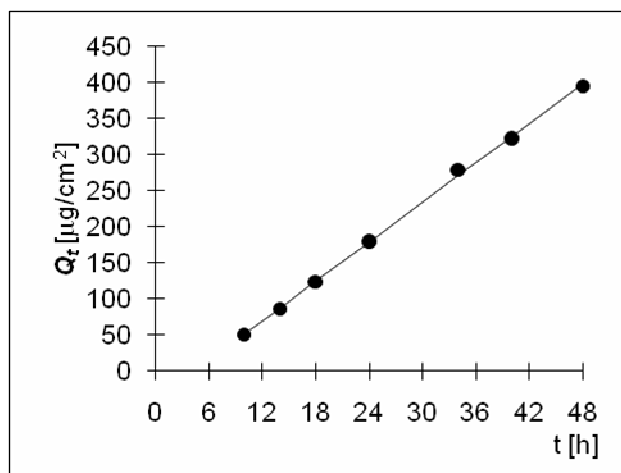
Donor: 0,3%

Měření: P2

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,545 | 0,6 | 0,545 | 101,4 | 50,7 |
| 14 | 0,909 | 0,6 | 0,927 | 172,4 | 86,2 |
| 18 | 1,292 | 0,6 | 1,321 | 245,8 | 122,9 |
| 24 | 1,890 | 0,6 | 1,933 | 359,5 | 179,8 |
| 34 | 2,932 | 0,6 | 2,995 | 557,0 | 278,5 |
| 40 | 3,362 | 0,6 | 3,458 | 643,2 | 321,6 |
| 48 | 4,120 | 0,6 | 4,232 | 787,1 | 393,5 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 50,7 | 51,5 |
| 14 | 86,2 | 87,9 |
| 18 | 122,9 | 124,2 |
| 24 | 179,8 | 178,8 |
| 34 | 278,5 | 269,7 |
| 40 | 321,6 | 324,2 |
| 48 | 393,5 | 397,0 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 9,091448$ |
| Abs. člen | $q = -39,4258$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999485$ |



Protokol 29

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,0$

Kůže: 13.3.2008

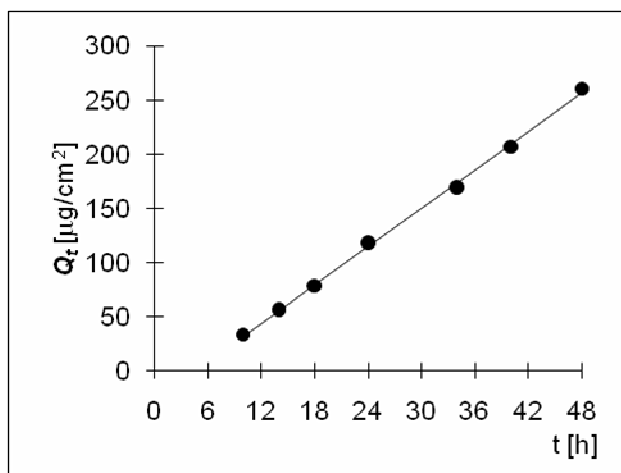
Donor: 0,0%

Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,393 | 0,6 | 0,393 | 66,8 | 33,4 |
| 14 | 0,650 | 0,6 | 0,663 | 112,8 | 56,4 |
| 18 | 0,900 | 0,6 | 0,923 | 156,9 | 78,5 |
| 24 | 1,357 | 0,6 | 1,390 | 236,3 | 118,1 |
| 34 | 1,944 | 0,6 | 1,993 | 338,8 | 169,4 |
| 40 | 2,365 | 0,6 | 2,435 | 414,0 | 207,0 |
| 48 | 2,974 | 0,6 | 3,060 | 520,2 | 260,1 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 33,4 | 32,5 |
| 14 | 56,4 | 56,1 |
| 18 | 78,5 | 79,7 |
| 24 | 118,1 | 115,0 |
| 34 | 169,4 | 173,9 |
| 40 | 207,0 | 209,3 |
| 48 | 260,1 | 256,4 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 5,89029$ |
| Abs. člen | $q = -26,3555$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999388$ |



Protokol 30

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,4$

Kůž: 13.3.2008

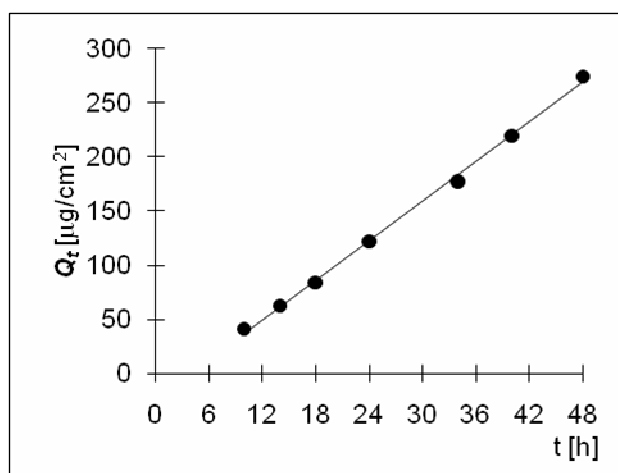
Donor: 0,0%

Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,504 | 0,6 | 0,504 | 82,6 | 41,3 |
| 14 | 0,746 | 0,6 | 0,765 | 125,4 | 62,7 |
| 18 | 0,993 | 0,6 | 1,021 | 167,4 | 83,7 |
| 24 | 1,446 | 0,6 | 1,483 | 243,2 | 121,6 |
| 34 | 2,106 | 0,6 | 2,160 | 354,3 | 177,1 |
| 40 | 2,596 | 0,6 | 2,675 | 438,7 | 219,3 |
| 48 | 3,239 | 0,6 | 3,337 | 547,2 | 273,6 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 41,3 | 41,3 |
| 14 | 62,7 | 62,7 |
| 18 | 83,7 | 83,7 |
| 24 | 121,6 | 121,6 |
| 34 | 177,1 | 177,1 |
| 40 | 219,3 | 219,3 |
| 48 | 273,6 | 273,6 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 6,083487$ |
| Abs. člen | $q = -23,4723$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999021$ |



Protokol 31

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,7$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,0%

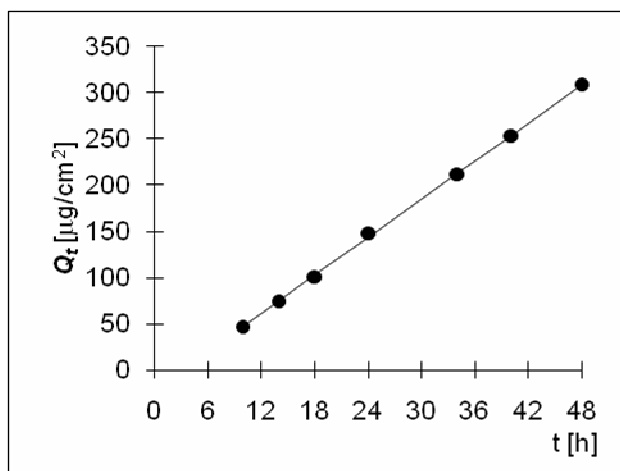
Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,561 | 0,6 | 0,561 | 93,7 | 46,9 |
| 14 | 0,871 | 0,6 | 0,891 | 148,8 | 74,4 |
| 18 | 1,174 | 0,6 | 1,206 | 201,4 | 100,7 |
| 24 | 1,724 | 0,6 | 1,768 | 295,2 | 147,6 |
| 34 | 2,476 | 0,6 | 2,539 | 424,1 | 212,0 |
| 40 | 2,941 | 0,6 | 3,032 | 506,4 | 253,2 |
| 48 | 3,585 | 0,6 | 3,694 | 616,9 | 308,4 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 46,9 | 47,3 |
| 14 | 74,4 | 74,9 |
| 18 | 100,7 | 102,4 |
| 24 | 147,6 | 143,7 |
| 34 | 212,0 | 212,5 |
| 40 | 253,2 | 253,7 |
| 48 | 308,4 | 308,8 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 6,879767$ |
| Abs. člen | $q = -21,4512$ |
| Korelační koef. | $r = 0,99983$ |



Protokol 32

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,8$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,5%

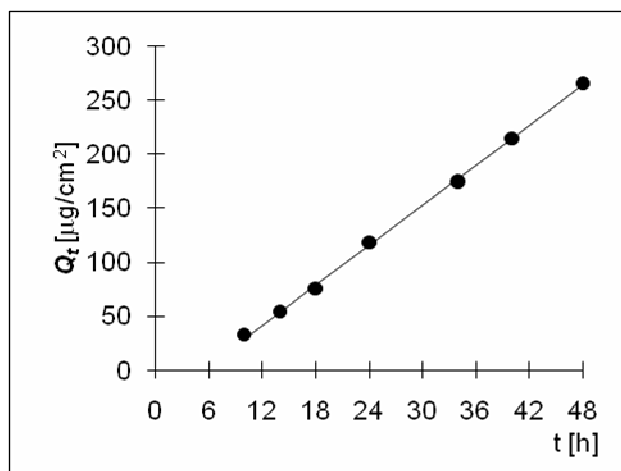
Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,367 | 0,6 | 0,367 | 65,3 | 32,7 |
| 14 | 0,594 | 0,6 | 0,607 | 108,0 | 54,0 |
| 18 | 0,826 | 0,6 | 0,846 | 150,6 | 75,3 |
| 24 | 1,302 | 0,6 | 1,330 | 236,7 | 118,4 |
| 34 | 1,916 | 0,6 | 1,961 | 349,1 | 174,5 |
| 40 | 2,347 | 0,6 | 2,413 | 429,5 | 214,8 |
| 48 | 2,903 | 0,6 | 2,985 | 531,3 | 265,6 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 32,7 | 29,8 |
| 14 | 54,0 | 54,4 |
| 18 | 75,3 | 79,0 |
| 24 | 118,4 | 116,0 |
| 34 | 174,5 | 177,6 |
| 40 | 214,8 | 214,6 |
| 48 | 265,6 | 263,9 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 6,161121$ |
| Abs. člen | $q = -31,8599$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999555$ |



Protokol 33

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,2$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,5%

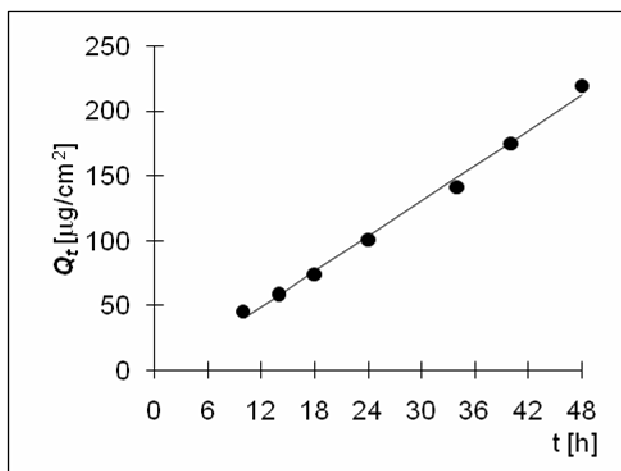
Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,567 | 0,6 | 0,567 | 91,8 | 45,9 |
| 14 | 0,707 | 0,6 | 0,728 | 117,9 | 58,9 |
| 18 | 0,893 | 0,6 | 0,920 | 149,0 | 74,5 |
| 24 | 1,216 | 0,6 | 1,250 | 202,6 | 101,3 |
| 34 | 1,703 | 0,6 | 1,749 | 283,4 | 141,7 |
| 40 | 2,102 | 0,6 | 2,166 | 351,0 | 175,5 |
| 48 | 2,630 | 0,6 | 2,710 | 439,1 | 219,6 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 45,9 | 40,2 |
| 14 | 58,9 | 58,4 |
| 18 | 74,5 | 76,6 |
| 24 | 101,3 | 103,8 |
| 34 | 141,7 | 149,2 |
| 40 | 175,5 | 176,4 |
| 48 | 219,6 | 212,8 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 4,540395$ |
| Abs. člen | $q = -5,17758$ |
| Korelační koef. | $r = 0,997075$ |



Protokol 34

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 15,6$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,5%

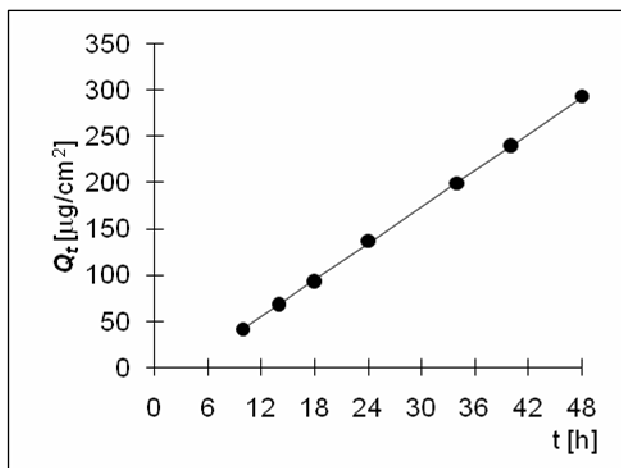
Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,539 | 0,6 | 0,539 | 84,1 | 42,0 |
| 14 | 0,855 | 0,6 | 0,876 | 136,7 | 68,3 |
| 18 | 1,167 | 0,6 | 1,200 | 187,2 | 93,6 |
| 24 | 1,706 | 0,6 | 1,752 | 273,4 | 136,7 |
| 34 | 2,484 | 0,6 | 2,551 | 398,0 | 199,0 |
| 40 | 2,979 | 0,6 | 3,077 | 480,0 | 240,0 |
| 48 | 3,632 | 0,6 | 3,751 | 585,1 | 292,5 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 42,0 | 42,1 |
| 14 | 68,3 | 68,4 |
| 18 | 93,6 | 94,8 |
| 24 | 136,7 | 134,3 |
| 34 | 199,0 | 200,3 |
| 40 | 240,0 | 239,8 |
| 48 | 292,5 | 292,5 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 6,590682$ |
| Abs. člen | $q = -23,8324$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999919$ |



Protokol 35

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,2$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,3%

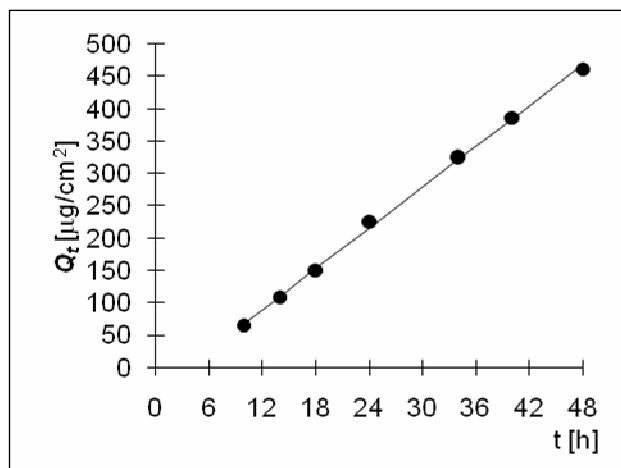
Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,800 | 0,6 | 0,800 | 129,6 | 64,8 |
| 14 | 1,307 | 0,6 | 1,337 | 216,6 | 108,3 |
| 18 | 1,801 | 0,6 | 1,851 | 299,8 | 149,9 |
| 24 | 2,710 | 0,6 | 2,779 | 450,2 | 225,1 |
| 34 | 3,916 | 0,6 | 4,019 | 651,0 | 325,5 |
| 40 | 4,623 | 0,6 | 4,772 | 773,1 | 386,5 |
| 48 | 5,518 | 0,6 | 5,695 | 922,6 | 461,3 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 64,8 | 68,5 |
| 14 | 108,3 | 110,6 |
| 18 | 149,9 | 152,7 |
| 24 | 225,1 | 215,8 |
| 34 | 325,5 | 321,1 |
| 40 | 386,5 | 384,3 |
| 48 | 461,3 | 468,5 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 10,5255$ |
| Abs. člen | $q = -36,7661$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999298$ |



Protokol 36

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,5$

Kůže: 13.3.2008

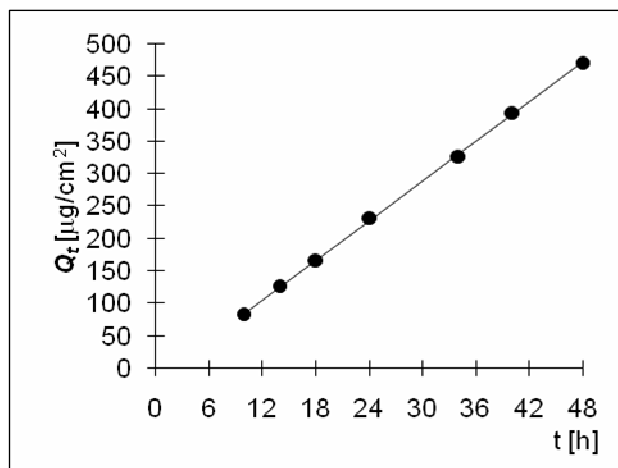
Donor: 0,3%

Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,907 | 0,6 | 0,907 | 167,8 | 83,9 |
| 14 | 1,343 | 0,6 | 1,372 | 253,9 | 127,0 |
| 18 | 1,753 | 0,6 | 1,797 | 332,5 | 166,3 |
| 24 | 2,449 | 0,6 | 2,508 | 463,9 | 231,9 |
| 34 | 3,456 | 0,6 | 3,538 | 654,4 | 327,2 |
| 40 | 4,151 | 0,6 | 4,265 | 789,1 | 394,6 |
| 48 | 4,953 | 0,6 | 5,092 | 941,9 | 471,0 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 83,9 | 85,6 |
| 14 | 127,0 | 126,4 |
| 18 | 166,3 | 167,1 |
| 24 | 231,9 | 228,3 |
| 34 | 327,2 | 330,2 |
| 40 | 394,6 | 391,3 |
| 48 | 471,0 | 472,9 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 10,19093$ |
| Abs. člen | $q = -16,3027$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999839$ |



Protokol 37

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,2$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,3%

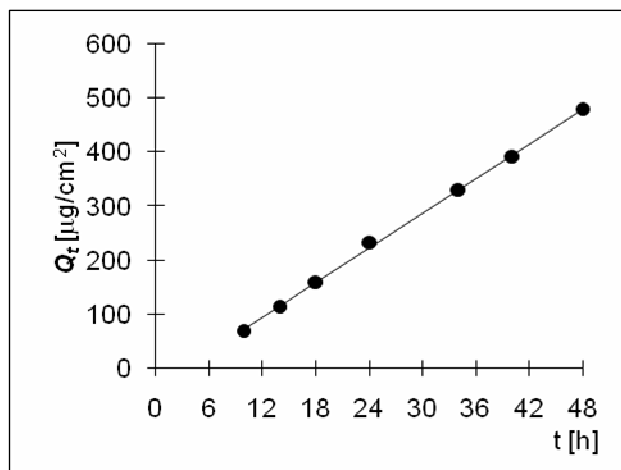
Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,764 | 0,6 | 0,764 | 139,0 | 69,5 |
| 14 | 1,232 | 0,6 | 1,257 | 228,8 | 114,4 |
| 18 | 1,705 | 0,6 | 1,746 | 317,8 | 158,9 |
| 24 | 2,492 | 0,6 | 2,549 | 464,0 | 232,0 |
| 34 | 3,543 | 0,6 | 3,627 | 660,2 | 330,1 |
| 40 | 4,183 | 0,6 | 4,302 | 783,0 | 391,5 |
| 48 | 5,114 | 0,6 | 5,256 | 956,6 | 478,3 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 69,5 | 73,3 |
| 14 | 114,4 | 116,1 |
| 18 | 158,9 | 158,8 |
| 24 | 232,0 | 223,0 |
| 34 | 330,1 | 329,9 |
| 40 | 391,5 | 394,0 |
| 48 | 478,3 | 479,6 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 10,69132$ |
| Abs. člen | $q = -33,6058$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999614$ |



Protokol 38

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,2$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,3%

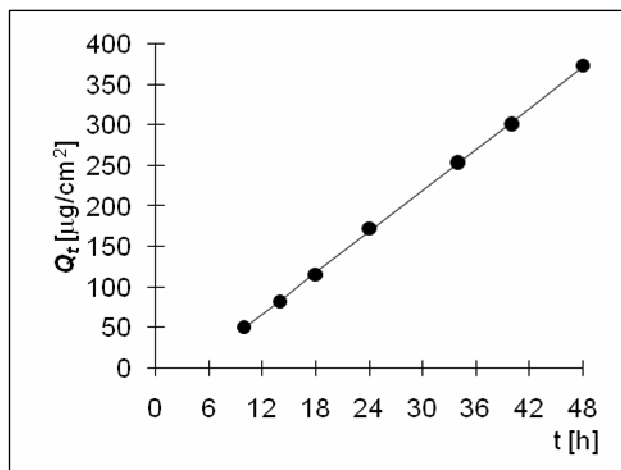
Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,638 | 0,6 | 0,638 | 103,4 | 51,7 |
| 14 | 0,998 | 0,6 | 1,021 | 165,5 | 82,7 |
| 18 | 1,398 | 0,6 | 1,435 | 232,5 | 116,3 |
| 24 | 2,085 | 0,6 | 2,138 | 346,4 | 173,2 |
| 34 | 3,062 | 0,6 | 3,141 | 508,8 | 254,4 |
| 40 | 3,608 | 0,6 | 3,724 | 603,3 | 301,7 |
| 48 | 4,465 | 0,6 | 4,603 | 745,7 | 372,8 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 51,7 | 50,7 |
| 14 | 82,7 | 84,5 |
| 18 | 116,3 | 118,4 |
| 24 | 173,2 | 169,1 |
| 34 | 254,4 | 253,7 |
| 40 | 301,7 | 304,4 |
| 48 | 372,8 | 372,0 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 8,455697$ |
| Abs. člen | $q = -33,8355$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999801$ |



Protokol 39

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,2$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,7%

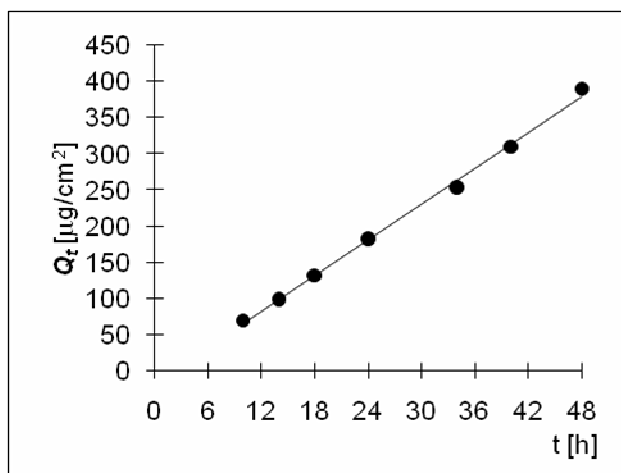
Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,817 | 0,6 | 0,817 | 140,5 | 70,2 |
| 14 | 1,125 | 0,6 | 1,153 | 198,4 | 99,2 |
| 18 | 1,497 | 0,6 | 1,537 | 264,4 | 132,2 |
| 24 | 2,075 | 0,6 | 2,129 | 366,2 | 183,1 |
| 34 | 2,881 | 0,6 | 2,955 | 508,2 | 254,1 |
| 40 | 3,501 | 0,6 | 3,604 | 619,9 | 309,9 |
| 48 | 4,403 | 0,6 | 4,529 | 778,9 | 389,5 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 70,2 | 66,2 |
| 14 | 99,2 | 99,2 |
| 18 | 132,2 | 132,3 |
| 24 | 183,1 | 181,9 |
| 34 | 254,1 | 264,5 |
| 40 | 309,9 | 314,0 |
| 48 | 389,5 | 380,1 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 8,260933$ |
| Abs. člen | $q = -16,4097$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998614$ |



Protokol 40

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,0$

Kůž: 13.3.2008

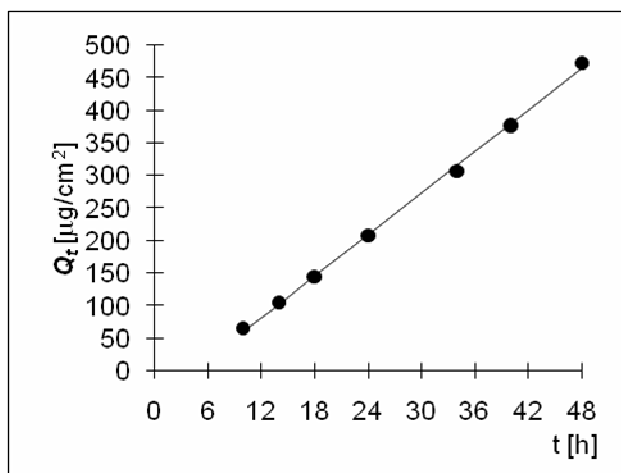
Donor: 0,7%

Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,734 | 0,6 | 0,734 | 132,1 | 66,0 |
| 14 | 1,148 | 0,6 | 1,173 | 211,1 | 105,6 |
| 18 | 1,566 | 0,6 | 1,605 | 288,9 | 144,4 |
| 24 | 2,266 | 0,6 | 2,319 | 417,5 | 208,8 |
| 34 | 3,341 | 0,6 | 3,419 | 615,4 | 307,7 |
| 40 | 4,082 | 0,6 | 4,196 | 755,3 | 377,7 |
| 48 | 5,119 | 0,6 | 5,259 | 946,6 | 473,3 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 66,0 | 61,4 |
| 14 | 105,6 | 103,9 |
| 18 | 144,4 | 146,4 |
| 24 | 208,8 | 210,1 |
| 34 | 307,7 | 316,4 |
| 40 | 377,7 | 380,1 |
| 48 | 473,3 | 465,1 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 10,62409$ |
| Abs. člen | $q = -44,8445$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999345$ |



Protokol 41

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,4$

Kůže: 13.3.2008

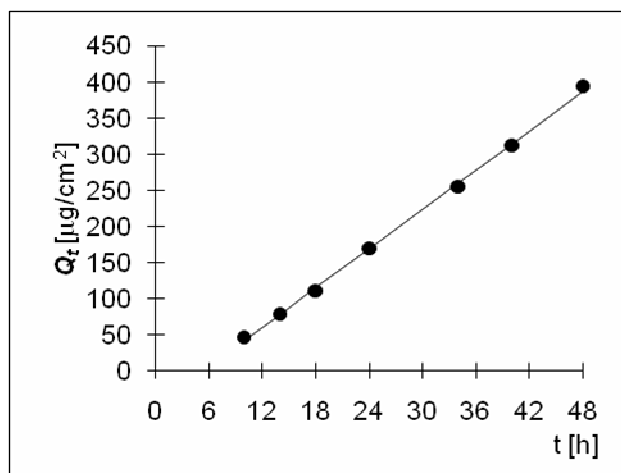
Donor: 0,7%

Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,577 | 0,6 | 0,577 | 94,6 | 47,3 |
| 14 | 0,945 | 0,6 | 0,966 | 158,4 | 79,2 |
| 18 | 1,323 | 0,6 | 1,358 | 222,8 | 111,4 |
| 24 | 2,019 | 0,6 | 2,068 | 339,2 | 169,6 |
| 34 | 3,038 | 0,6 | 3,114 | 510,6 | 255,3 |
| 40 | 3,691 | 0,6 | 3,805 | 624,0 | 312,0 |
| 48 | 4,657 | 0,6 | 4,796 | 786,5 | 393,2 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 47,3 | 42,5 |
| 14 | 79,2 | 78,8 |
| 18 | 111,4 | 115,1 |
| 24 | 169,6 | 169,5 |
| 34 | 255,3 | 260,3 |
| 40 | 312,0 | 314,7 |
| 48 | 393,2 | 387,3 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 9,074766$ |
| Abs. člen | $q = -48,2906$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999476$ |



Protokol 42

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,2$

Kůže: 13.3.2008

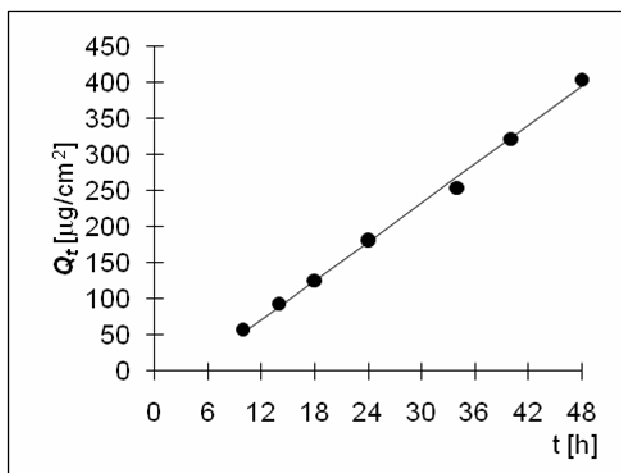
Donor: 0,7%

Měření: P3

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,715 | 0,6 | 0,715 | 115,8 | 57,9 |
| 14 | 1,121 | 0,6 | 1,148 | 186,0 | 93,0 |
| 18 | 1,501 | 0,6 | 1,543 | 250,0 | 125,0 |
| 24 | 2,183 | 0,6 | 2,240 | 362,9 | 181,5 |
| 34 | 3,054 | 0,6 | 3,137 | 508,2 | 254,1 |
| 40 | 3,857 | 0,6 | 3,974 | 643,7 | 321,9 |
| 48 | 4,833 | 0,6 | 4,980 | 806,8 | 403,4 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 57,9 | 54,7 |
| 14 | 93,0 | 90,4 |
| 18 | 125,0 | 126,1 |
| 24 | 181,5 | 179,7 |
| 34 | 254,1 | 269,0 |
| 40 | 321,9 | 322,6 |
| 48 | 403,4 | 394,0 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 8,930059$ |
| Abs. člen | $q = -34,5955$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998282$ |



Protokol 43

| | |
|------------------|--------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1 \text{ cm}^2$ |

$V_o = 16,7$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,0%

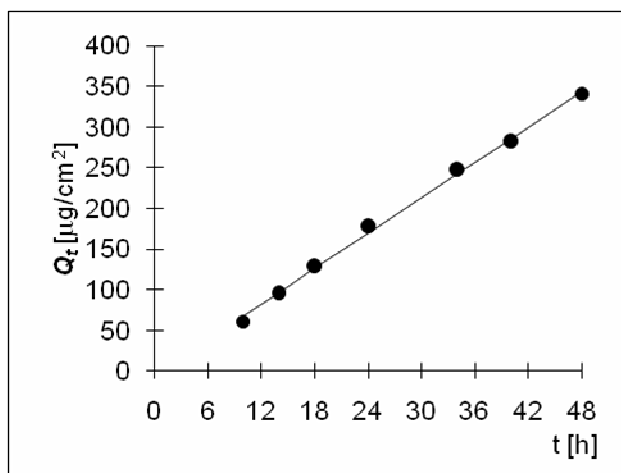
Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,735 | 0,6 | 0,735 | 122,7 | 61,4 |
| 14 | 1,126 | 0,6 | 1,152 | 192,5 | 96,2 |
| 18 | 1,513 | 0,6 | 1,555 | 259,7 | 129,8 |
| 24 | 2,079 | 0,6 | 2,135 | 356,6 | 178,3 |
| 34 | 2,894 | 0,6 | 2,971 | 496,2 | 248,1 |
| 40 | 3,279 | 0,6 | 3,386 | 565,5 | 282,7 |
| 48 | 3,949 | 0,6 | 4,071 | 679,8 | 339,9 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 61,4 | 68,8 |
| 14 | 96,2 | 97,8 |
| 18 | 129,8 | 126,8 |
| 24 | 178,3 | 170,2 |
| 34 | 248,1 | 242,7 |
| 40 | 282,7 | 286,1 |
| 48 | 339,9 | 344,1 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 7,244646$ |
| Abs. člen | $q = -3,64964$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998498$ |



Protokol 44

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,7$

Kůže: 13.3.2008

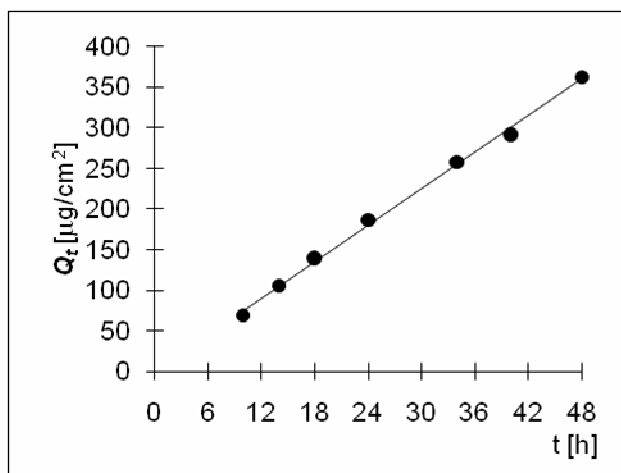
Donor: 0,0%

Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,828 | 0,6 | 0,828 | 138,2 | 69,1 |
| 14 | 1,228 | 0,6 | 1,258 | 210,1 | 105,0 |
| 18 | 1,624 | 0,6 | 1,669 | 278,8 | 139,4 |
| 24 | 2,170 | 0,6 | 2,230 | 372,5 | 186,2 |
| 34 | 3,002 | 0,6 | 3,082 | 514,6 | 257,3 |
| 40 | 3,378 | 0,6 | 3,489 | 582,6 | 291,3 |
| 48 | 4,201 | 0,6 | 4,327 | 722,5 | 361,3 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 69,1 | 69,1 |
| 14 | 105,0 | 105,0 |
| 18 | 139,4 | 139,4 |
| 24 | 186,2 | 186,2 |
| 34 | 257,3 | 257,3 |
| 40 | 291,3 | 291,3 |
| 48 | 361,3 | 361,3 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 7,476275$ |
| Abs. člen | $q = 0,586565$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998706$ |



Protokol 45

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,2$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,0%

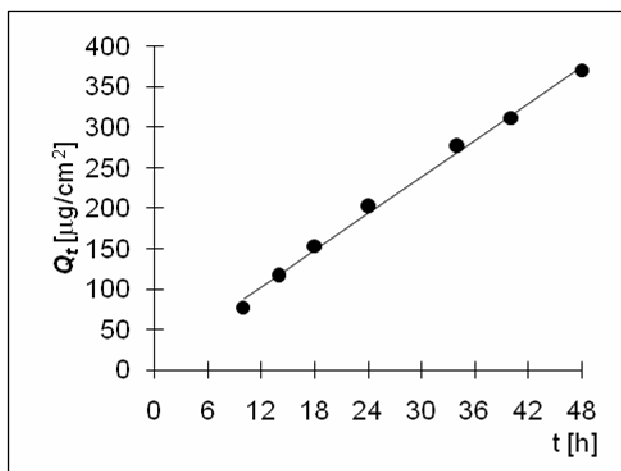
Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,853 | 0,6 | 0,853 | 155,3 | 77,6 |
| 14 | 1,261 | 0,6 | 1,289 | 234,6 | 117,3 |
| 18 | 1,640 | 0,6 | 1,682 | 306,2 | 153,1 |
| 24 | 2,170 | 0,6 | 2,226 | 405,1 | 202,5 |
| 34 | 2,972 | 0,6 | 3,046 | 554,3 | 277,2 |
| 40 | 3,318 | 0,6 | 3,419 | 622,2 | 311,1 |
| 48 | 3,943 | 0,6 | 4,056 | 738,2 | 369,1 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 77,6 | 88,0 |
| 14 | 117,3 | 118,2 |
| 18 | 153,1 | 148,5 |
| 24 | 202,5 | 193,8 |
| 34 | 277,2 | 269,4 |
| 40 | 311,1 | 314,7 |
| 48 | 369,1 | 375,2 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 7,557457$ |
| Abs. člen | $q = 12,44368$ |
| Korelační koef. | $r = 0,997709$ |



Protokol 46

| | |
|------------------|-----------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1cm^2$ |

$V_o = 16,0$

Kůže: 13.3.2008

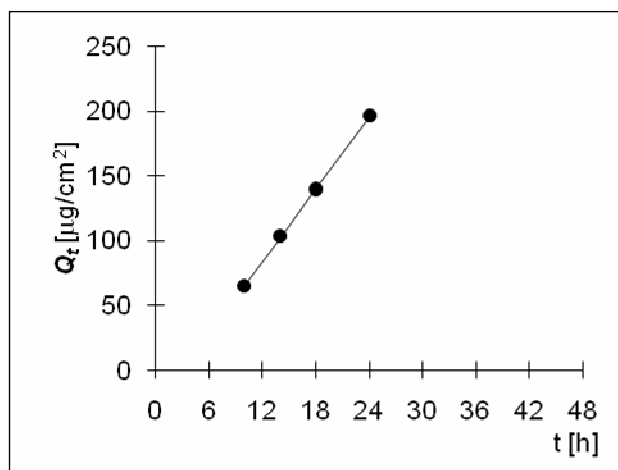
Donor: 1,0%

Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,820 | 0,6 | 0,820 | 131,3 | 65,6 |
| 14 | 1,267 | 0,6 | 1,297 | 207,6 | 103,8 |
| 18 | 1,694 | 0,6 | 1,743 | 278,9 | 139,4 |
| 24 | 2,384 | 0,6 | 2,449 | 391,8 | 195,9 |
| 34 | 3,251 | 0,6 | 3,343 | 534,9 | 267,4 |
| 40 | 3,541 | 0,6 | 3,666 | 586,6 | 293,3 |
| 48 | 4,287 | 0,6 | 4,424 | 707,9 | 353,9 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|----|-------------|--------------|
| 10 | 65,6 | 65,9 |
| 14 | 103,8 | 103,0 |
| 18 | 139,4 | 140,1 |
| 24 | 195,9 | 195,8 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 4$ |
| Flux | $J = 9,274301$ |
| Abs. člen | $q = -26,8315$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999936$ |



Protokol 47

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,8$

Kůže: 13.3.2008

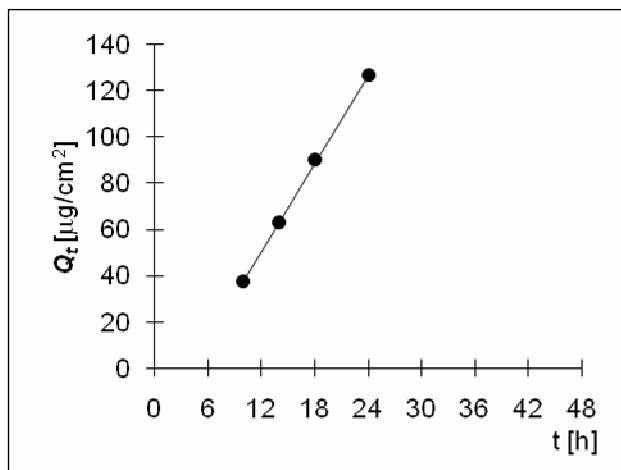
Donor: 1,0%

Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,447 | 0,6 | 0,447 | 75,1 | 37,5 |
| 14 | 0,733 | 0,6 | 0,749 | 125,8 | 62,9 |
| 18 | 1,044 | 0,6 | 1,071 | 180,0 | 90,0 |
| 24 | 1,466 | 0,6 | 1,504 | 252,7 | 126,3 |
| 34 | 2,090 | 0,6 | 2,143 | 360,1 | 180,0 |
| 40 | 2,371 | 0,6 | 2,448 | 411,3 | 205,6 |
| 48 | 2,992 | 0,6 | 3,080 | 517,4 | 258,7 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|----|-------------|--------------|
| 10 | 37,5 | 37,8 |
| 14 | 62,9 | 63,3 |
| 18 | 90,0 | 88,7 |
| 24 | 126,3 | 127,0 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 4$ |
| Flux | $J = 6,367793$ |
| Abs. člen | $q = -25,8742$ |
| Korelační koef. | $r = 0,99976$ |



Protokol 48

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,6$

Kůž: 13.3.2008

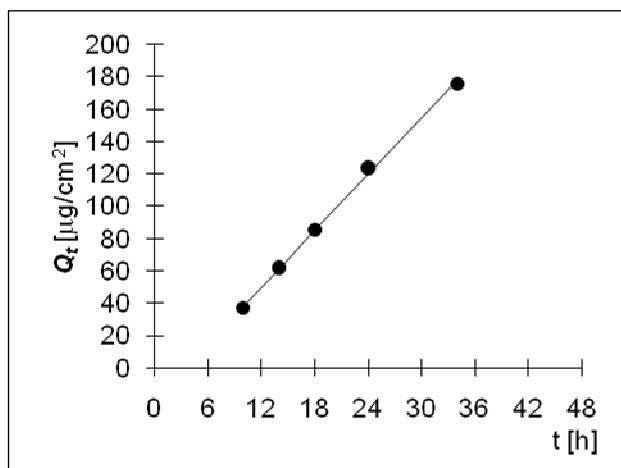
Donor: 1,0%

Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,397 | 0,6 | 0,397 | 73,8 | 36,9 |
| 14 | 0,652 | 0,6 | 0,664 | 123,6 | 61,8 |
| 18 | 0,895 | 0,6 | 0,916 | 170,4 | 85,2 |
| 24 | 1,301 | 0,6 | 1,330 | 247,4 | 123,7 |
| 34 | 1,845 | 0,6 | 1,888 | 351,2 | 175,6 |
| 40 | 2,115 | 0,6 | 2,176 | 404,6 | 202,3 |
| 48 | 2,682 | 0,6 | 2,752 | 511,8 | 255,9 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 36,9 | 38,6 |
| 14 | 61,8 | 61,8 |
| 18 | 85,2 | 85,0 |
| 24 | 123,7 | 119,9 |
| 34 | 175,6 | 177,9 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 5,803148$ |
| Abs. člen | $q = -19,4134$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999026$ |



Protokol 49

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,6$

Kůže: 13.3.2008

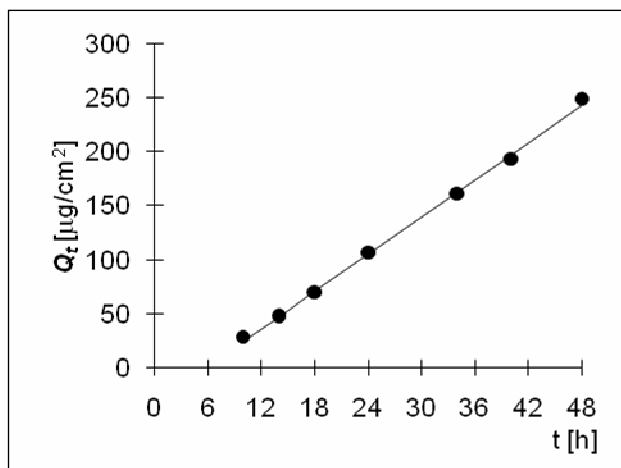
Donor: 0,7%

Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,321 | 0,6 | 0,321 | 56,6 | 28,3 |
| 14 | 0,532 | 0,6 | 0,543 | 95,6 | 47,8 |
| 18 | 0,775 | 0,6 | 0,793 | 139,6 | 69,8 |
| 24 | 1,182 | 0,6 | 1,209 | 212,8 | 106,4 |
| 34 | 1,789 | 0,6 | 1,830 | 322,1 | 161,0 |
| 40 | 2,135 | 0,6 | 2,198 | 386,8 | 193,4 |
| 48 | 2,751 | 0,6 | 2,826 | 497,4 | 248,7 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 28,3 | 25,3 |
| 14 | 47,8 | 48,3 |
| 18 | 69,8 | 71,3 |
| 24 | 106,4 | 105,8 |
| 34 | 161,0 | 163,3 |
| 40 | 193,4 | 197,7 |
| 48 | 248,7 | 243,7 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 7$ |
| Flux | $J = 5,748063$ |
| Abs. člen | $q = -32,1773$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999247$ |



Protokol 50

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 15,6$

Kůže: 13.3.2008

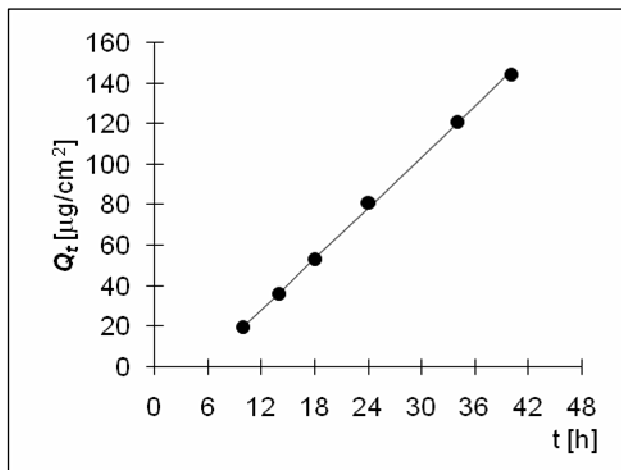
Donor: 0,7%

Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,251 | 0,6 | 0,251 | 39,1 | 19,5 |
| 14 | 0,452 | 0,6 | 0,462 | 72,1 | 36,0 |
| 18 | 0,664 | 0,6 | 0,681 | 106,3 | 53,2 |
| 24 | 1,014 | 0,6 | 1,040 | 162,2 | 81,1 |
| 34 | 1,508 | 0,6 | 1,548 | 241,5 | 120,7 |
| 40 | 1,790 | 0,6 | 1,849 | 288,5 | 144,3 |
| 48 | 2,391 | 0,6 | 2,462 | 384,1 | 192,0 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 19,5 | 20,1 |
| 14 | 36,0 | 36,8 |
| 18 | 53,2 | 53,5 |
| 24 | 81,1 | 78,6 |
| 34 | 120,7 | 120,4 |
| 40 | 144,3 | 145,5 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 6$ |
| Flux | $J = 4,181549$ |
| Abs. člen | $q = -21,7585$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999625$ |



Protokol 51

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 18,5$

Kůže: 13.3.2008

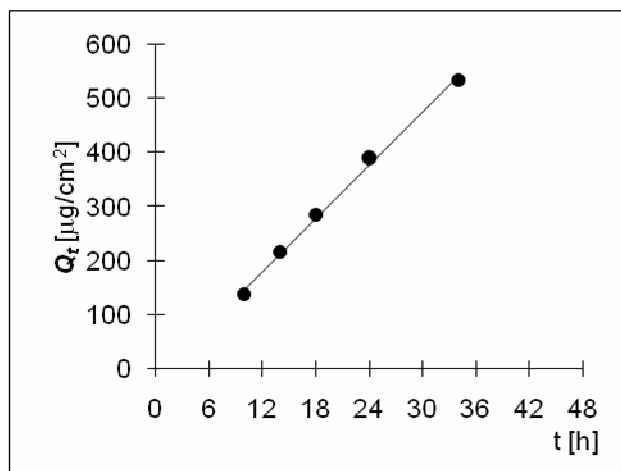
Donor: 0,7%

Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|---------|-------|
| 10 | 1,481 | 0,6 | 1,481 | 274,1 | 137,0 |
| 14 | 2,275 | 0,6 | 2,323 | 429,7 | 214,9 |
| 18 | 2,989 | 0,6 | 3,065 | 566,9 | 283,5 |
| 24 | 4,113 | 0,6 | 4,212 | 779,3 | 389,6 |
| 34 | 5,631 | 0,6 | 5,768 | 1 067,1 | 533,5 |
| 40 | 6,334 | 0,6 | 6,521 | 1 206,4 | 603,2 |
| 48 | 7,822 | 0,6 | 8,033 | 1 486,1 | 743,1 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 137,0 | 146,9 |
| 14 | 214,9 | 212,8 |
| 18 | 283,5 | 278,7 |
| 24 | 389,6 | 377,6 |
| 34 | 533,5 | 542,5 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 16,48177$ |
| Abs. člen | $q = -17,9276$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998188$ |



Protokol 52

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,8$

Kůže: 13.3.2008

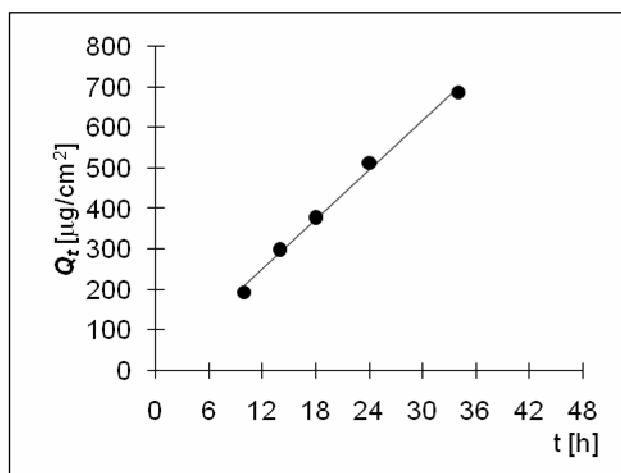
Donor: 0,7%

Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|--------|---------|-------|
| 10 | 2,186 | 0,6 | 2,186 | 389,2 | 194,6 |
| 14 | 3,297 | 0,6 | 3,370 | 599,9 | 300,0 |
| 18 | 4,139 | 0,6 | 4,252 | 756,9 | 378,5 |
| 24 | 5,617 | 0,6 | 5,761 | 1 025,4 | 512,7 |
| 34 | 7,510 | 0,6 | 7,705 | 1 371,4 | 685,7 |
| 40 | 8,322 | 0,6 | 8,582 | 1 527,6 | 763,8 |
| 48 | 10,116 | 0,6 | 10,405 | 1 852,2 | 926,1 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 194,6 | 211,2 |
| 14 | 300,0 | 292,4 |
| 18 | 378,5 | 373,7 |
| 24 | 512,7 | 495,5 |
| 34 | 685,7 | 698,6 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 20,30712$ |
| Abs. člen | $q = 8,14471$ |
| Korelační koef. | $r = 0,997197$ |



Protokol 53

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,0$

Kůže: 13.3.2008

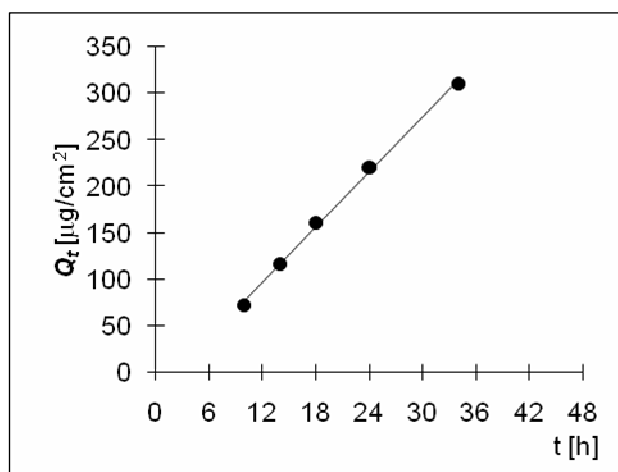
Donor: 0,7%

Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,904 | 0,6 | 0,904 | 144,7 | 72,3 |
| 14 | 1,423 | 0,6 | 1,457 | 233,2 | 116,6 |
| 18 | 1,958 | 0,6 | 2,013 | 322,1 | 161,0 |
| 24 | 2,681 | 0,6 | 2,756 | 441,0 | 220,5 |
| 34 | 3,771 | 0,6 | 3,874 | 619,9 | 309,9 |
| 40 | 4,308 | 0,6 | 4,454 | 712,6 | 356,3 |
| 48 | 5,491 | 0,6 | 5,658 | 905,3 | 452,6 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|----|-------------|--------------|
| 10 | 72,3 | 77,3 |
| 14 | 116,6 | 116,8 |
| 18 | 161,0 | 156,3 |
| 24 | 220,5 | 215,6 |
| 34 | 309,9 | 314,3 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 9,875182$ |
| Abs. člen | $q = -21,4317$ |
| Korelační koef. | $r = 0,998683$ |



Protokol 54

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 16,6$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,7%

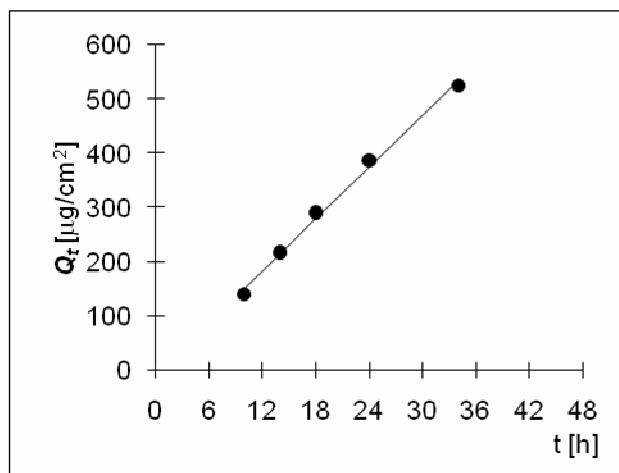
Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|----|----------|------------------|-------|---------|-------|
| 10 | 1,697 | 0,6 | 1,697 | 281,7 | 140,8 |
| 14 | 2,555 | 0,6 | 2,617 | 434,3 | 217,2 |
| 18 | 3,409 | 0,6 | 3,503 | 581,6 | 290,8 |
| 24 | 4,545 | 0,6 | 4,672 | 775,5 | 387,7 |
| 34 | 6,154 | 0,6 | 6,323 | 1 049,6 | 524,8 |
| 40 | 6,967 | 0,6 | 7,196 | 1 194,5 | 597,2 |
| 48 | 8,635 | 0,6 | 8,895 | 1 476,6 | 738,3 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|----|-------------|--------------|
| 10 | 140,8 | 153,0 |
| 14 | 217,2 | 216,7 |
| 18 | 290,8 | 280,4 |
| 24 | 387,7 | 376,0 |
| 34 | 524,8 | 535,2 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 15,92377$ |
| Abs. člen | $q = -6,21173$ |
| Korelační koef. | $r = 0,99719$ |



Protokol 55

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 17,5$

Kůže: 13.3.2008

Donor: 0,7%

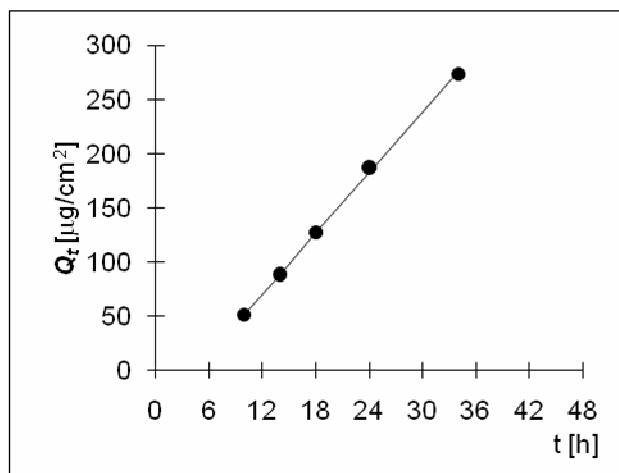
Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,591 | 0,6 | 0,591 | 103,3 | 51,7 |
| 14 | 0,997 | 0,6 | 1,017 | 177,9 | 89,0 |
| 18 | 1,421 | 0,6 | 1,456 | 254,8 | 127,4 |
| 24 | 2,094 | 0,6 | 2,144 | 375,2 | 187,6 |
| 34 | 3,049 | 0,6 | 3,122 | 546,4 | 273,2 |
| 40 | 3,508 | 0,6 | 3,615 | 632,7 | 316,3 |
| 48 | 4,587 | 0,6 | 4,711 | 824,5 | 412,2 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 51,7 | 52,9 |
| 14 | 89,0 | 90,0 |
| 18 | 127,4 | 127,2 |
| 24 | 187,6 | 182,9 |
| 34 | 273,2 | 275,8 |

Parametry regrese

| | |
|-----------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 9,289424$ |
| Abs. člen | $q = -40,0259$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999485$ |



Protokol 56

| | |
|------------------|------------------------------------|
| V_o | [ml] |
| t | [h] |
| C_{nk} | [mg/100ml] |
| ΔV_{dop} | [ml] |
| C_k | [mg/100ml] |
| Q_t | [μ g] ve V_o |
| Q_t | [μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$ |

$V_o = 15,6$

Kůže: 13.3.2008

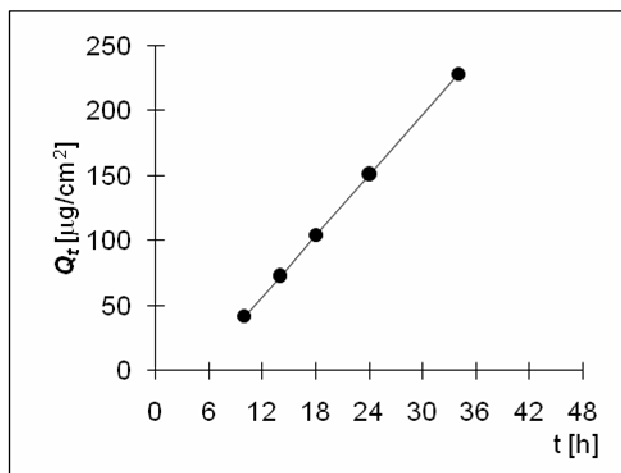
Donor: 0,7%

Měření: P4

| t | C_{nk} | ΔV_{dop} | C_k | Q_t | Q_t |
|-----|----------|------------------|-------|-------|-------|
| 10 | 0,535 | 0,6 | 0,535 | 83,5 | 41,7 |
| 14 | 0,911 | 0,6 | 0,931 | 145,3 | 72,6 |
| 18 | 1,295 | 0,6 | 1,331 | 207,6 | 103,8 |
| 24 | 1,881 | 0,6 | 1,932 | 301,4 | 150,7 |
| 34 | 2,841 | 0,6 | 2,915 | 454,8 | 227,4 |
| 40 | 3,323 | 0,6 | 3,435 | 535,8 | 267,9 |
| 48 | 4,321 | 0,6 | 4,453 | 694,7 | 347,3 |

| t | Q_t (exp) | Q_t (teor) |
|-----|-------------|--------------|
| 10 | 41,7 | 41,8 |
| 14 | 72,6 | 72,8 |
| 18 | 103,8 | 103,8 |
| 24 | 150,7 | 150,2 |
| 34 | 227,4 | 227,7 |

| Parametry regrese | |
|-------------------|----------------|
| Počet bodů | $n = 5$ |
| Flux | $J = 7,742977$ |
| Abs. člen | $q = -35,6114$ |
| Korelační koef. | $r = 0,999992$ |



6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Při provádění permeačních pokusů byly využity poznatky z experimentů získaných již dříve na katedře farmaceutické technologie.

Akceptorové médium svým složením představovalo kompromis mezi požadavkem na intaktnost vůči kožním štěpům pro „in vitro“ pokusy, při jejich současné konzervaci diazolidinylureou a požadavkem neinterferovat v UV oblasti se stanovovaným léčivem. Proto byl použit již vyzkoušený roztok TRIS pufru o pH 7,1, který zároveň zajistil vhodné pH akceptorové fáze.

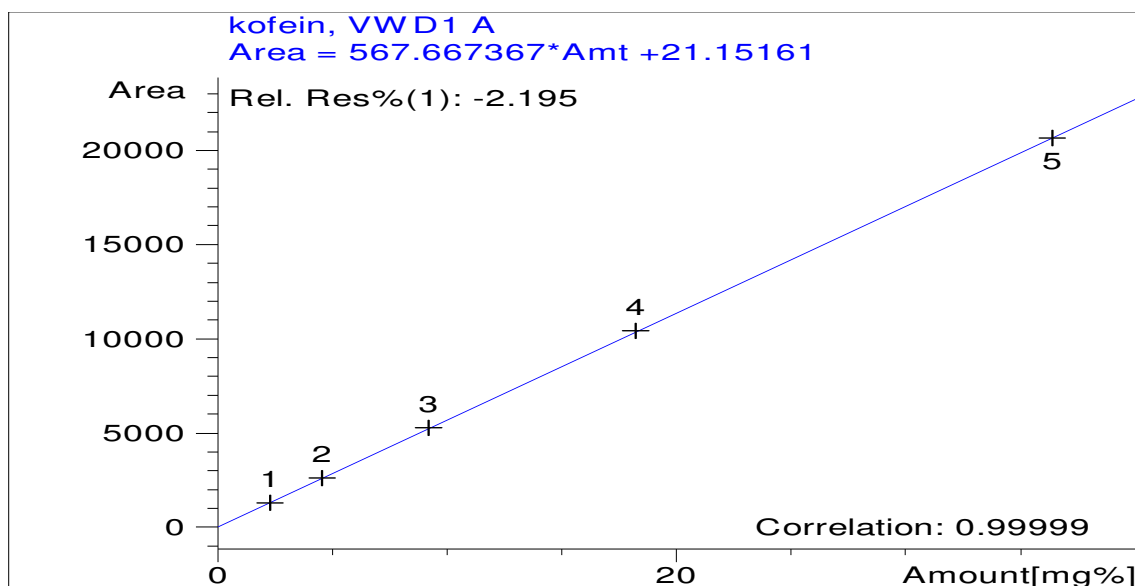
Kofein byl použit v množství, které po celou dobu permeace zajistilo dostatečnou koncentraci difuzibilní formy léčiva.

Rovněž instrumentální sestava, použitá pro fixaci kůže prasečího ucha plné tloušťky, byla ověřena používáním na katedře farmaceutické technologie.

Vybraná analytická metoda plně vyhovovala požadavkům na rychlé a dostatečně citlivé sériové HPLC stanovení kofeinu. Jako optimální se pro daný účel ukázala zvolená mobilní fáze ve složení voda:methanol 75:25 okyselená 0,2% kyseliny mravenčí. Před každým novým naplněním do chromatografické soustavy byla odplyněna na ultrazvukové lázni po dobu 10 až 15 min., což se ukázalo jako dostačující.

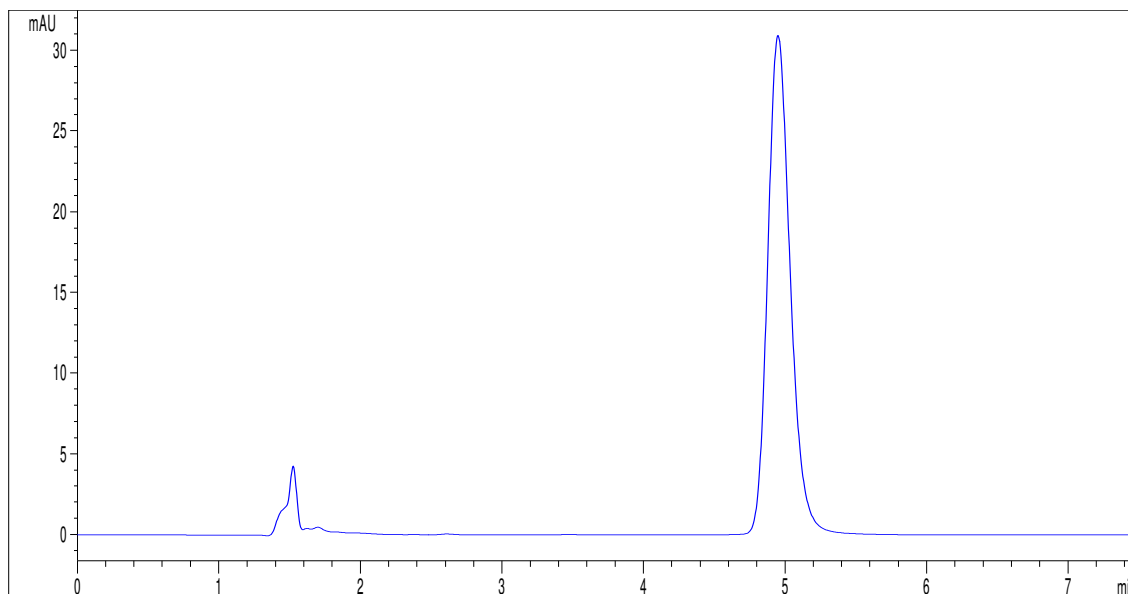
Vhodnost takto optimalizovaných podmínek stanovení kofeinu dokládají i výsledky měření kalibračních standardů znázorněné v **grafu 1**.

Graf 1: Kalibrační přímka pro kofein

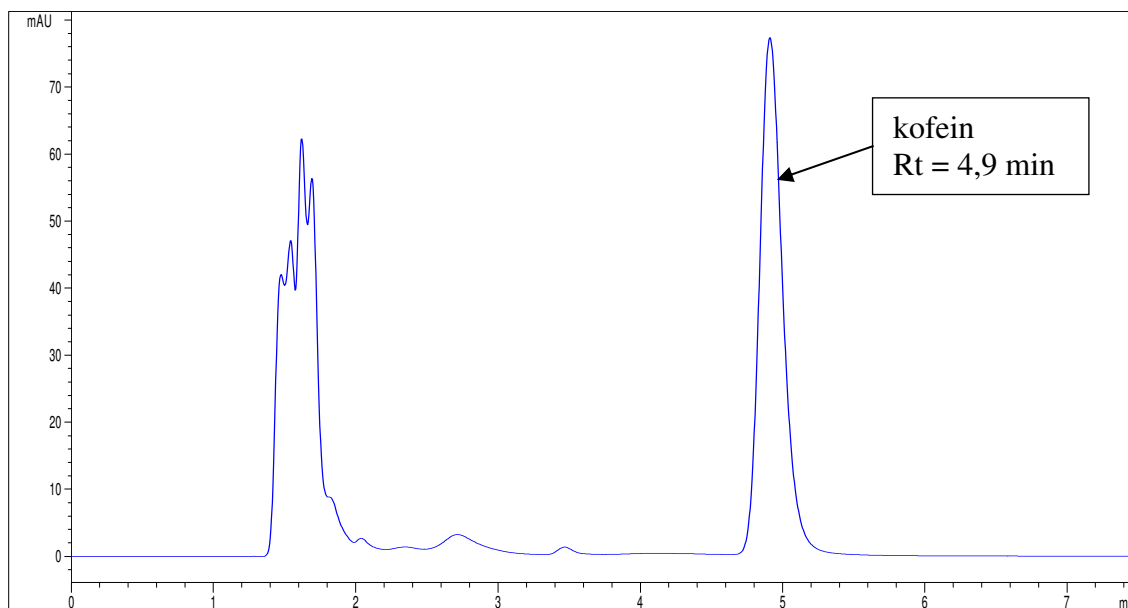


Díky vhodně zvoleným chromatografickým podmínkám byla zajištěna dobrá separace píků kofeinu v retenčních časech kolem 4,9 min.- jak ukazují záznamy na **grafu 2 a grafu 3**.

Graf 2: Chromatogram standardního roztoku kofeinu (0,47 mg/100ml)



Graf 3: Chromatogram vzorku odebraného v 10.hodině, série P1, protokol č.1



Údaje získané na HPLC byly zpracovány pomocí excelové šablony pro korekci odebraných a doplněných objemů akceptorové fáze ³³. V této šabloně byly také sestaveny průběhy permeace stanovované látky v čase.

V každém takto sestaveném průběhu byl většinou bez větších problémů nalezen úsek ustálené permeace. Krajiní hodnoty, které vybočovaly z lineárního průběhu bylo nutné vyloučit, stejně tak i hodnoty, které vybočovaly pravděpodobně z důvodu experimentální chyby. Takto získaná data jsou v úplnosti uvedena v protokolech č.1-56.

Z úseku ustálené permeace byl vyčíslen flux kofeinu J [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$] jako hlavní sledovaný parametr permeačních pokusů. Získané hodnoty fluxu J byly různé podle použitého kožního štěpu, což potvrzuje skutečnost, že transdermální permeace látek je ovlivněna individuálními vlastnostmi kůže. Pro první sérii měření (P1) byly použity kožní štěpy prasečí kůže, která byla zpracována 11.1.2008, v době provádění pokusu byla tedy uchovávána 3 měsíce. Kožní štěpy, které byly použity v následujících sériích měření (P2-P4) pocházely z kůže dodané a zpracované 13.3.2008.

Jednotlivé hodnoty fluxů J , průměrné hodnoty fluxů J_r a směrodatné odchylky hodnot fluxů σ_J byly v první fázi zpracování výsledků spočítány ze všech naměřených hodnot, tedy ze všech sérií měření P1-P4, bez ohledu na datum zpracování použité kůže.

Výše uvedené hodnoty jsou uvedeny v souhrnných **tabulkách 1 - 4**.

Tab. 1: Souhrnné výsledky permeace pro sérii měření P1

| Série měření | Číslo protokolu | Kůže | Konc.T12 (%) | J | J_r | σ_J |
|--------------|-----------------|-----------|--------------|--------|--------|------------|
| P1 | 1 | 11.1.2008 | 0,00% | 13,050 | 14,222 | 1,334 |
| P1 | 2 | 11.1.2008 | 0,00% | 13,527 | | |
| P1 | 3 | 11.1.2008 | 0,00% | 16,089 | | |
| P1 | 4 | 11.1.2008 | 1,00% | 8,879 | 13,335 | 4,136 |
| P1 | 5 | 11.1.2008 | 1,00% | 12,280 | | |
| P1 | 6 | 11.1.2008 | 1,00% | 18,845 | | |
| P1 | 7 | 11.1.2008 | 0,50% | 8,154 | 9,485 | 1,669 |
| P1 | 8 | 11.1.2008 | 0,50% | 7,517 | | |
| P1 | 9 | 11.1.2008 | 0,50% | 11,293 | | |
| P1 | 10 | 11.1.2008 | 0,50% | 10,977 | | |
| P1 | 11 | 11.1.2008 | 0,30% | 14,040 | 12,323 | 2,065 |
| P1 | 12 | 11.1.2008 | 0,30% | 14,117 | | |
| P1 | 13 | 11.1.2008 | 0,30% | 9,030 | | |
| P1 | 14 | 11.1.2008 | 0,30% | 12,107 | | |

Tab. 2: Souhrnné výsledky permeace pro sérii měření P2

| Série měření | Číslo protokolu | Kůže | Konc.T12 (%) | J | J _r | σ _J |
|--------------|-----------------|-----------|--------------|--------|----------------|----------------|
| P2 | 15 | 13.3.2008 | 0,00% | 4,218 | 4,889 | 0,644 |
| P2 | 16 | 13.3.2008 | 0,00% | 4,690 | | |
| P2 | 17 | 13.3.2008 | 0,00% | 5,758 | | |
| P2 | 18 | 13.3.2008 | 1,00% | 6,768 | 7,285 | 0,809 |
| P2 | 19 | 13.3.2008 | 1,00% | 8,427 | | |
| P2 | 20 | 13.3.2008 | 1,00% | 6,658 | | |
| P2 | 21 | 13.3.2008 | 0,50% | 10,372 | 10,766 | 0,899 |
| P2 | 22 | 13.3.2008 | 0,50% | 12,290 | | |
| P2 | 23 | 13.3.2008 | 0,50% | 10,442 | | |
| P2 | 24 | 13.3.2008 | 0,50% | 9,960 | | |
| P2 | 25 | 13.3.2008 | 0,30% | 5,010 | 7,657 | 1,596 |
| P2 | 26 | 13.3.2008 | 0,30% | 7,820 | | |
| P2 | 27 | 13.3.2008 | 0,30% | 8,707 | | |
| P2 | 28 | 13.3.2008 | 0,30% | 9,091 | | |

Tab. 3: Souhrnné výsledky permeace pro sérii měření P3

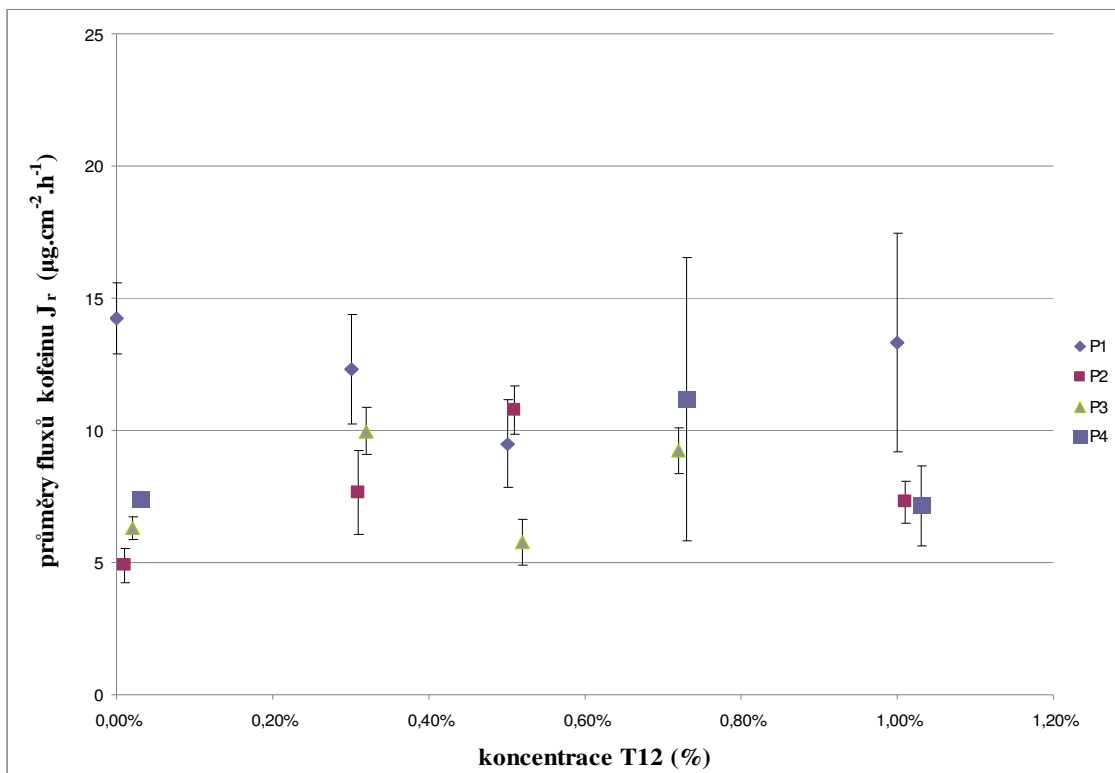
| Série měření | Číslo protokolu | Kůže | Konc.T12 (%) | J | J _r | σ _J |
|--------------|-----------------|-----------|--------------|--------|----------------|----------------|
| P3 | 29 | 13.3.2008 | 0,00% | 5,890 | 6,285 | 0,428 |
| P3 | 30 | 13.3.2008 | 0,00% | 6,083 | | |
| P3 | 31 | 13.3.2008 | 0,00% | 6,880 | | |
| P3 | 32 | 13.3.2008 | 0,50% | 6,161 | 5,764 | 0,883 |
| P3 | 33 | 13.3.2008 | 0,50% | 4,540 | | |
| P3 | 34 | 13.3.2008 | 0,50% | 6,591 | | |
| P3 | 35 | 13.3.2008 | 0,30% | 10,525 | 9,966 | 0,890 |
| P3 | 36 | 13.3.2008 | 0,30% | 10,191 | | |
| P3 | 37 | 13.3.2008 | 0,30% | 10,691 | | |
| P3 | 38 | 13.3.2008 | 0,30% | 8,456 | | |
| P3 | 39 | 13.3.2008 | 0,70% | 8,261 | 9,222 | 0,866 |
| P3 | 40 | 13.3.2008 | 0,70% | 10,624 | | |
| P3 | 41 | 13.3.2008 | 0,70% | 9,075 | | |
| P3 | 42 | 13.3.2008 | 0,70% | 8,930 | | |

Tab. 4: Souhrnné výsledky permeace pro sérii měření P4

| Série měření | Číslo protokolu | Kůž | Konc.T12 (%) | J | J _r | σ _J |
|--------------|-----------------|-----------|--------------|--------|----------------|----------------|
| P4 | 43 | 13.3.2008 | 0,00% | 7,245 | 7,426 | 0,133 |
| P4 | 44 | 13.3.2008 | 0,00% | 7,476 | | |
| P4 | 45 | 13.3.2008 | 0,00% | 7,557 | | |
| P4 | 46 | 13.3.2008 | 1,00% | 9,274 | 7,148 | 1,521 |
| P4 | 47 | 13.3.2008 | 1,00% | 6,368 | | |
| P4 | 48 | 13.3.2008 | 1,00% | 5,803 | | |
| P4 | 49 | 13.3.2008 | 0,70% | 5,748 | 11,194 | 5,356 |
| P4 | 50 | 13.3.2008 | 0,70% | 4,182 | | |
| P4 | 51 | 13.3.2008 | 0,70% | 16,482 | | |
| P4 | 52 | 13.3.2008 | 0,70% | 20,307 | | |
| P4 | 53 | 13.3.2008 | 0,70% | 9,875 | | |
| P4 | 54 | 13.3.2008 | 0,70% | 15,924 | | |
| P4 | 55 | 13.3.2008 | 0,70% | 9,289 | | |
| P4 | 56 | 13.3.2008 | 0,70% | 7,743 | | |

Z průměrných hodnot fluxů každé série měření (P1- P4) byl sestaven **graf č. 4**.

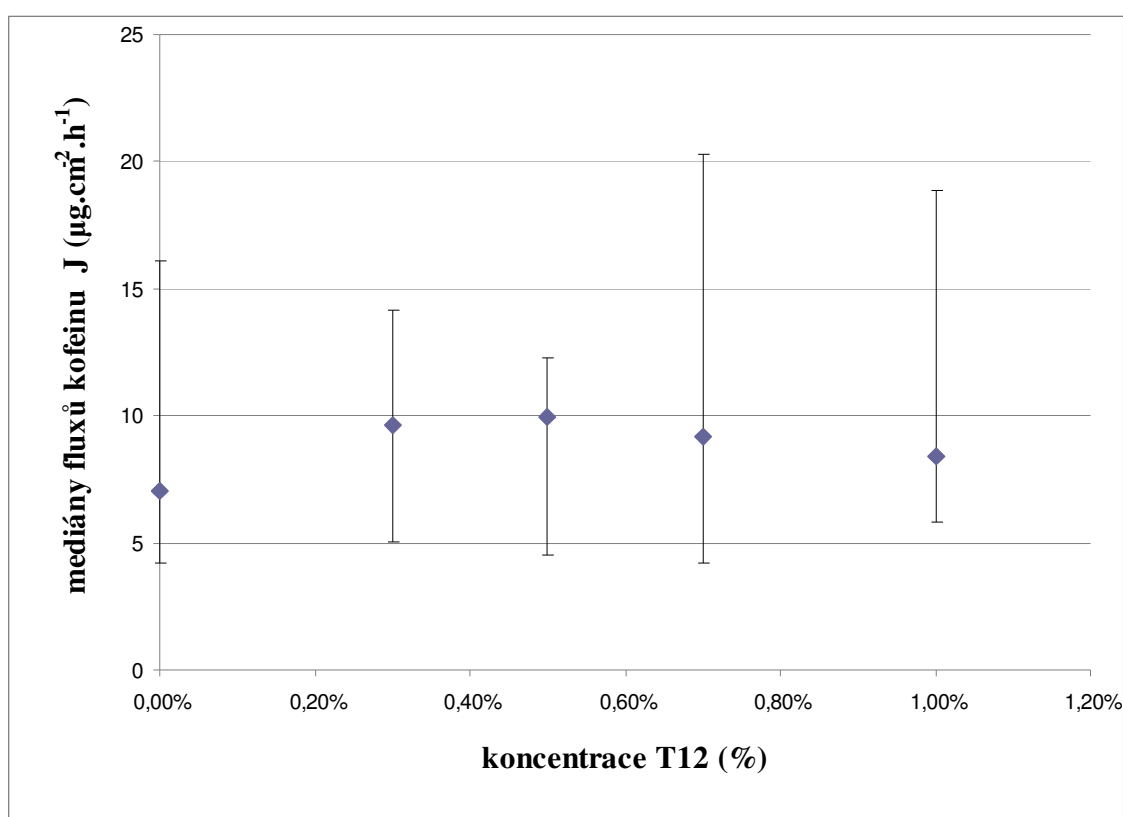
Graf č. 4: Průměry fluxů kofeinu odpovídající rozdílným koncentracím T12 z jednotlivých sérií měření (úsečky znázorňují směrodatné odchylky)



Graf č. 4 ukazuje na výrazně vyšší hodnotu průměru fluxu s 0 % T12 (kontrolní vzorek) v první sérii měření (P1) ve srovnání s hodnotami průměrů fluxů, které byly získány u vzorků s 0 % T12 v ostatních sériích měření (P2-P4) a u vzorků s 0,5 % T12 v téže sérii měření (P1).

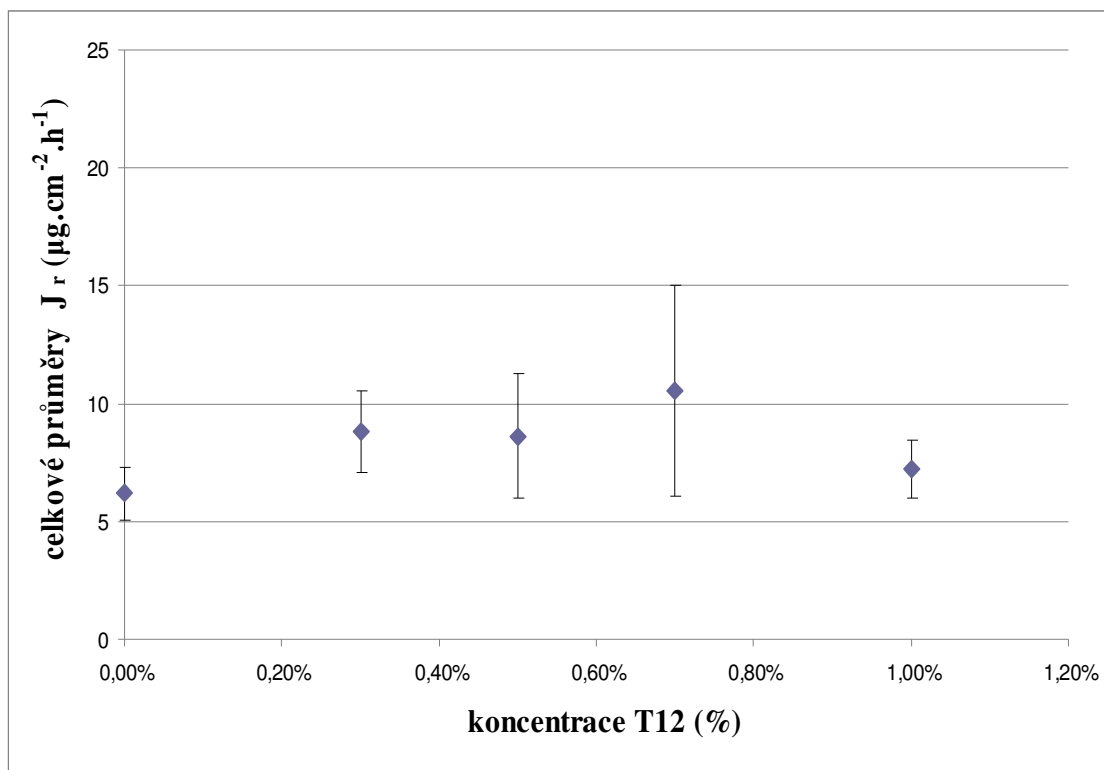
V dalším kroku byl sestaven graf, kde na ose y byly vyneseny mediány fluxů kofeinu. Základní výhodou mediánu jako statistického ukazatele je fakt, že není ovlivněný extrémními hodnotami, což ukazuje **graf č. 5**.

Graf č. 5: Mediány fluxů kofeinu odpovídající rozdílným koncentracím T12 ze všech sérií měření (úsečky znázorňují rozpětí dat)

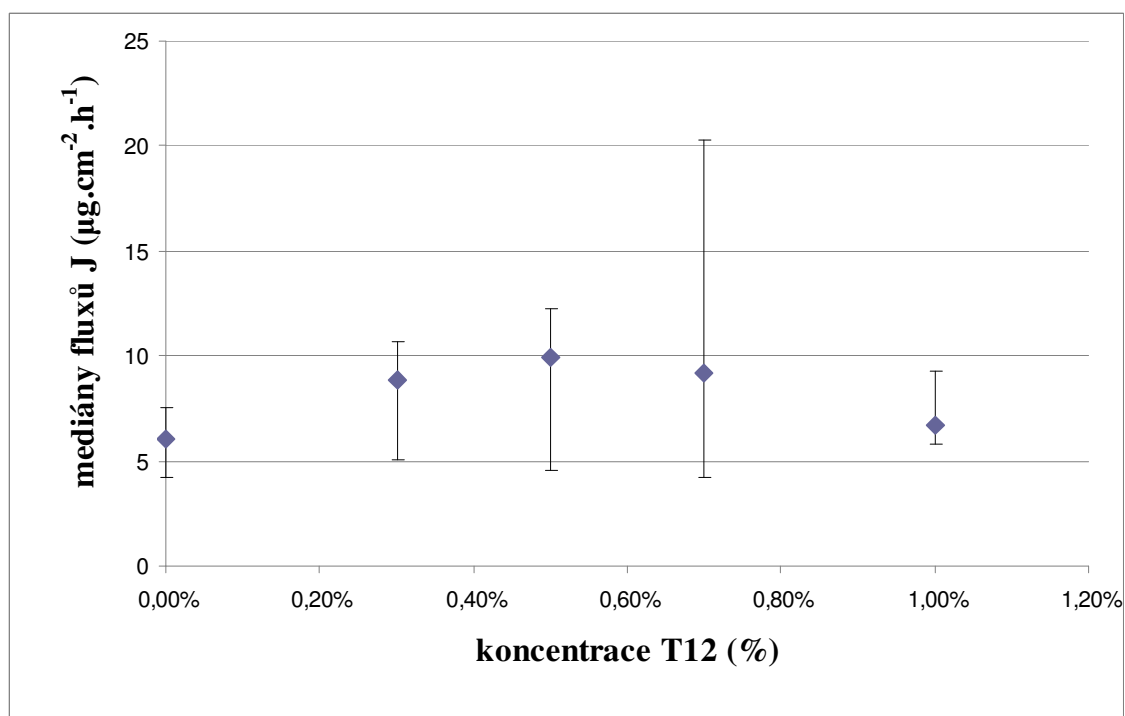


Na základě údajů prezentovaných v **grafu č. 4** bylo rozhodnuto vyloučit z výsledků celou sérii měření P1. Vysoká hodnota průměrného fluxu s 0 % T12 ze série P1 by mohla zkreslit konečný výsledek. Možná příčina rozdílných hodnot kontrolních vzorků by mohla souviset s tím, že kožní štěpy použité v sérii P1 byly staršího data a měly tedy delší dobu uchovávání a nejasnou historii podmínek skladování. Výsledky s vyřazenou sérií P1 jsou prezentovány v **grafech č. 6 a 7**.

Graf č. 6: Celkové průměry průměrů fluxů odpovídající rozdílným koncentracím T12 ze sérií měření P2 - P4 (úsečky znázorňují směrodatné odchylky)

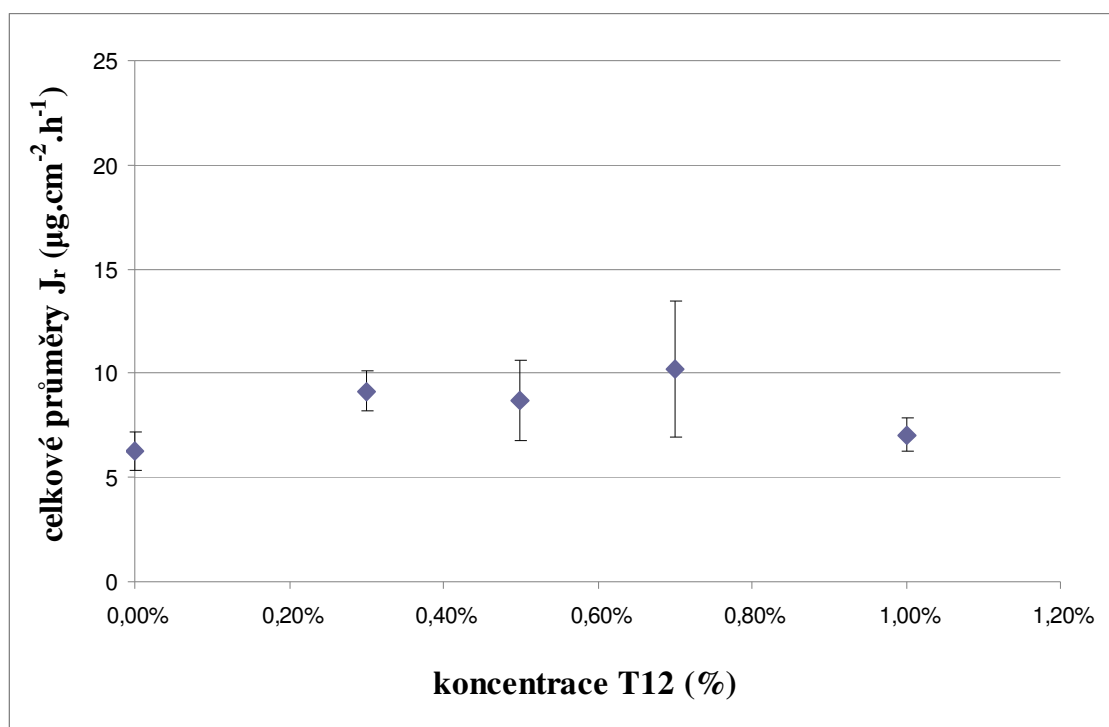


Graf č. 7: Mediány fluxů kofeinu odpovídající rozdílným koncentracím T12 ze sérií měření P2 - P4 (úsečky znázorňují rozpětí dat)



I po odstranění série měření P1 byla variabilita získaných dat stále značná, proto bylo přistoupeno k metodě symetrického odstranění krajních bodů. Jednalo se o odstranění 2 bodů - maximálního a minimálního pro každou koncentraci T12. Takto získaná data byla zanesena do **grafu č. 8** a podrobena zpracování nepárovým t-testem v šabloně dostupné v počítačové síti FaF³⁴ a uvedena v **tabulce č. 5**.

Graf č. 8: Celkové průměry fluxů odpovídající rozdílným koncentracím T12 ze sérií měření P2 -P4 po symetrickém odstranění krajních bodů (úsečky znázorňují směrodatné odchylky)



Tab. č.5: Výsledky nepárových t-testů na hladině významnosti 0,05

(Hypotéza 1: „Průměrná hodnota $J_r(\alpha) \neq J_r(\beta)$ “ prokázána byla (Y), nebyla (N) /
Hypotéza 2: „Průměrná hodnota $J_r(\alpha) > J_r(\beta)$ “ prokázána byla (Y), nebyla (N))

| konc. T12 | 0,30 % | 0,50 % | 0,70 % | 1,00 % |
|-----------|--------|--------|--------|--------|
| 0,00 % | Y/Y | Y/Y | Y/Y | N/N |
| 0,30 % | | N/N | N/N | Y/Y |
| 0,50 % | | | N/N | N/N |
| 0,70 % | | | | N/N |

Kromě vzorků s 1% T12 jsou průměrné fluxy kofeinu **Jr** vždy statisticky signifikantně vyšší u vzorků s obsahujícími T12, než u kontrolních vzorků bez T12. Vzájemně se však statisticky významně neliší (opět s výjimkou vzorků s 1 % T12 ve srovnání se vzorky s 0,3 % T12).

7 ZÁVĚRY

1. Celkové průměry J_r a jejich směrodatné odchylky ze sérií měření P2 - P4

$$J_r = 6,29 \pm 0,90 \mu\text{g.cm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ pro } \mathbf{0,0 \% T12}$$

$$J_r = 9,13 \pm 0,95 \mu\text{g.cm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ pro } \mathbf{0,3 \% T12}$$

$$J_r = 8,71 \pm 1,91 \mu\text{g.cm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ pro } \mathbf{0,5 \% T12}$$

$$J_r = 10,20 \pm 3,25 \mu\text{g.cm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ pro } \mathbf{0,7 \% T12}$$

$$J_r = 7,06 \pm 0,81 \mu\text{g.cm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ pro } \mathbf{1,0 \% T12}$$

2. Pro krém s obsahem 30 % vodné fáze bylo nalezeno maximum akceleračního účinku T12 v 0,7 %.

3. V diplomové práci Jany Štikové ³⁵ bylo pro krém s obsahem 60 % vodné fáze a stejnými koncentracemi T12 dosaženo následujících výsledků:

$$J_r = 7,88 \pm 1,52 \mu\text{g.cm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ pro } \mathbf{0,0 \% T12}$$

$$J_r = 9,34 \pm 1,62 \mu\text{g.cm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ pro } \mathbf{0,3 \% T12}$$

$$J_r = 10,89 \pm 2,03 \mu\text{g.cm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ pro } \mathbf{0,5 \% T12}$$

$$J_r = 11,29 \pm 3,03 \mu\text{g.cm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ pro } \mathbf{0,7 \% T12}$$

$$J_r = 11,09 \pm 2,21 \mu\text{g.cm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ pro } \mathbf{1,0 \% T12}$$

4. Při porovnání akceleračního účinku u oleokrému s 30 % vodné fáze a oleokrému s 60% vodné fáze bylo v obou případech nalezeno maximum u 0,7 % koncentrace T12.

5. Pro budoucí experimenty tohoto typu bych doporučovala udělat větší počet sérií měření s rovnoměrnějším rozložením jednotlivých koncentrací T12 pro každou sérii. Při případném odstranění některé ze sérií, by tak ztráta dat byla vyvážená, pro každou koncentraci T12.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

| | |
|--|---|
| T12 | Transkarbam 12 |
| SC | stratum corneum |
| TEWL | měření transepidermální ztráty vody |
| TTS | transdermální terapeutický systém |
| MEAK | minimální efektivní analgetická koncentrace |
| DMSO | dimethylsulfoxid |
| AP | akcelerační poměr |
| P1 – P4 | první až čtvrtá série měření |
| J [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$] | flux kofeinu |
| J_r [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$] | průměrná hodnota fluxů kofeinu |
| σ_J | směrodatná odchylka hodnot fluxů |
| V_o [ml] | celkové množství akceptorového média |
| ΔV_{dop} [ml] | množství doplňovaného akceptorového média |
| t [h] | čas |
| C_{nk} [mg/100ml] | nekorigovaná koncentrace permeantu v akceptorové fázi |
| C_k [mg/100ml] | korigovaná koncentrace permeantu v akceptorové fázi |
| Q_t [μg] | množství permeantu prošlého kožní membránou |
| Q_t [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$] | množství permeantu prošlého přes 2 cm ² kožní membrány |
| n | počet naměřených bodů |
| r | korelační koeficient |
| q | absolutní člen |

9 ZDROJE

- 1** Bashir, S.J., Cheb, A.L., Anigbogu A., et al.: Physical and physiological effects of stratum corneum tape stripping. *Skin research and technology*, 2001; 7: 40–48.
- 2** Choi, M.J., Maibach, H.I.: Topical vaccination of DNA antigens: Topical delivery of DNA antigens. *Skin pharmacology and applied skin physiology*, 2003; 116: 271–282
- 3** Linc, R.: Anatomie a fyziologie člověka. 563-564. In: Rosypal, S., Doškař, J., Frynta, D., et al.: *Nový přehled biologie*. 1. vydání. Scientia, Praha 2003, 797 s
- 4** Menon, G.K.: New Insights into Skin Structure: Scratching the surface. *Advanced drug delivery reviews*, 2002; 54: 3-17
- 5** Suhonen, M. T., Bouwstra, J. A., Urtti, A.: Chemical Enhancement of Percutaneous Absorption in Relation to Stratum Corneum Structural Alterations. *Journal of controlled release*, 1999; 59: 149-161.
- 6** Elias, P.M.: Stratum Corneum Defensive Functions: An Integrated View. *The Journal of investigative dermatology*, 2005; 125: 183-200.
- 7** <http://www.cerave.com/barrier.htm> (15.1. 2009)
- 8** Resl, V., Leba, M., Rampl, I.: Měření transepidermální ztráty vody (TEWL). *Česko-slovenská dermatologie*, 2008; 6: 319-324
- 9** Likar, R.: Practice of transdermal pain therapy. Bremen, UNI-MED, 2005, 160 s
- 10** Lejško, J., Machart, S.: Dlouhodobá léčba opioidy u chronické nenádorové bolesti. *Bolest*, 2003; 3: 149-150

- 11** Janoščíková, E., Juřica, J., Dostálek, M.: Cesty podání léčiva do organismu a absorpce léčiv. 77-78. In: Dostálek, M., Juřica, J., Janoščíková, E., et al.: Farmakokinetika. 1. vydání. Grada, Praha 2006, 220 s.
- 12** Hadašová, E., Jezdinský, J.: Léčiva ovlivňující funkci žláz s vnitřní sekrecí. 439. In: Lincová, D., Farghali, H., Černá, O., et al.: Základní a aplikovaná farmakologie. 2.vydání. Galén, Praha 2007, 672 s.
- 13** Hrabálek, A., Doležal, P., Šklubalová, Z., et al.: Akceleranty transdermální penetrace. Chemické listy, 93, 1999; 2: 107-119
- 14** Willams, A.C., Barry, B.W.: Penetration enhancers. Advanced Drug Delivery Reviews, 2004; 56: 603-618
- 15** Hrabálek, A., Vávrová, K.: Lze překonat kožní bariéru? Praktické lékařství, 2005; 1: 8-11
- 16** Chalabala, M., Rabišková, M., Chalupová, Z., et al.: Léky jako aplikační systémy. 308-311. In: Chalabala, M., Komárek, P., Rabišková, M., et al.: Technologie léků. 3. vydání. Galén, Praha 2006, 399 s.
- 17** Klingman, A., M.: Topical Pharmacology and Toxikology of Dimethylsuloxide. Journal of the American Medical Association, 1965; 193: 796
- 18** Kratochvíl, B.: Krystalizace farmaceutických substancí. Chemické listy, 101, 2007; 1: 3-12
- 19** Megrab, N.A., Williams, A.C., Barry, B.W.: Oestradiol Permeation Across Human Skin, Silastic and Snake Skin Membranes: the Effects of Ethanol/Water co-Solvent Systéme. International Journal of Pharmaceutics, 1995; 114: 237-245
- 20** Kanikkannan, N., Mandip Singh,: Skin permeation enhancement effect and skin irritation of saturated fatty alcohols, International Journal of Pharmaceutics 2002; 248: 219-228

- 21** Klimentová, J., Kosák, P., Vávrová, K., et al.: Influence of terminal branching on the transdermal permeation-enhancing activity in fatty alcohols and acids. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 2006; 14: 7681-7687
- 22** Williams, A.C., Barry, B.W.: Urea analogues in propylene glycol as penetration enhancers in human skin, 1989; 1: 43-50
- 23** Beastall, J.C., Hadgraft, J., Washington, C.: Mechanism of action of Azone as a percutaneous penetration enhancer: Lipid bilayer fluidity and transition temperature effects. *International Journal of Pharmaceutics*, 1988; 3: 207-213
- 24** <http://www.chemyq.com/En/xz/xz2/16748ipilr.htm> (2.2.2009)
- 25** Amrish, C., Kumar, S.P. : Transdermal delivery of ketorolac. *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 2009; 3: 373-379
- 26** <http://iss.fsv.cuni.cz/IFORUM-3022.html> (3.2.2009)
- 27** Zbytovská, J., Raudenkolb, S., Wartewig, S., et al.: Phase behaviour of transkarbam 12. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2004; 1: 97-109
- 28** Hrabálek, A., Doležal, P., Vávrová, K., et al.: Synthesis and Enhancing Effect of Transkarbam 12 on the Transdermal Delivery of Theophylline, Clotrimazole, Flubufen, and Griseofulvin, 2006; 5: 912-919
- 29** Hrabálek, A., Vávrová, K., Doležal, P., et al.: Esters of 6-Aminohexanoic Acid as Skin Permeation Enhancers: The Effect of Branching in the Alkanol Moiety. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2005; 7: 1494-1499
- 30** Klimentová, J., Kosák, P., Vávrová, K., et al.: Transkarbams with terminal branching as transdermal permeation enhancers, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008; 5: 1712-1715

- 31** Hrabálek, A., Doležal, P., Roman, M., et al.: Esters of ω -amino acids as flexible penetration enhancers. *Pharmazie*, 1994; 49: 325-328
- 32** Hrabálek, A., Vávrová, K.: Historie a současný stav ve vývoji akceleračních transdermálních permeací na FaF UK v Hradci Králové – od esterů 6-aminohexanové kyseliny k transkarbamům (II. část), 2007; 6: úvod
- 33** Klemra, P., Doležal, P., Berka, P.: Šablona pro zpracování výsledků permeačních pokusů. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, 2008.
- 34** Klemra, P.: Univerzální šablona pro statistické výpočty parametrů t-rozdělení a t testů. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta. Hradec Králové. 1998.
- 35** Štiková, J.: Transkarbam 12 a transdermální průnik kofeinu z oleokrému.1., Hradec Králové, 2009. Diplomová práce na Farmaceutické fakultě Univerzity Karlovy na katedře farmaceutické technologie. Vedoucí práce: Mgr. Pavel Berka

